



## รายงานการวิจัย

การหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณ  
สารแอนทราควิโนนและเมทิลแอนทรานิลเลตจากพืช

**Optimization for Extraction and Quantitative Analysis of  
Anthraquinone and Methyl Anthranilate from Plants**

รุจิรา คุ่มทรัพย์ และคณะ  
สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2560

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณ  
สารแอนทราควิโนนและเมซิลแอนทรานิเลทจากพืช

Optimization for Extraction and Quantitative Analysis of  
Anthraquinone and Methyl Anthranilate from Plants

|                         |                                     |
|-------------------------|-------------------------------------|
| รุจิรา คุ่มทรัพย์       | สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี |
| เสาวภา ชุมณี            | สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี |
| ชนากานต์ วิญญกุล        | สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี |
| วิไลพร ปองเพียร         | สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี |
| ศศิگانต์ ปานปรางค์เจริญ | สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี |

ทุนอุดหนุนโดย งบประมาณแผ่นดินที่พิจารณาโดยผ่านความเห็นชอบ  
จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ  
ประจำปีงบประมาณ 2560

( ก )

|              |                                                                                                |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ชื่องานวิจัย | การหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณสาร<br>แอนทราควิโนนและเมทิลแอนทราควิโนนจากพืช |
| ผู้วิจัย     | รุจิรา คุ่มทรัพย์                                                                              |
| ผู้ร่วมวิจัย | เสาวภา ชุมณี ชนาภานต์ วิญญกุล วิไลพร ปองเพียร<br>ศศิกานต์ ปานปรางค์เจริญ                       |
| สาขาวิชา     | เคมี<br>มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ปีเสร็จวิจัย 2560                                           |

### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดสารแอนทราควิโนนจากรากขมิ้น ผักกูด และใบขี้เหล็ก โดยใช้การสกัด 2 วิธีคือ วิธีที่ 1 สกัดด้วยตัวทำละลาย 70%, 80% และ 95%(v/v) เอทานอล ใช้เครื่องสกัดแบบชอกที่เลตและ วิธีที่ 2 สกัดโดยการต้มด้วยน้ำ ตรวจสอบสารแอนทราควิโนนด้วยปฏิกิริยา Brontrager และวิเคราะห์ปริมาณสารแอนทราควิโนนโดยเปรียบเทียบกับตัวทำละลายทั้งสองวิธีด้วยเทคนิค ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมตริกที่ความยาวคลื่น 325 นาโนเมตร พบปริมาณสารแอนทราควิโนนมากที่สุดที่ 70%(v/v) เอทานอล ของผักกูด เท่ากับ 193.79 mg/gพืชแห้ง สำหรับการสกัดสารเมทิลแอนทราควิโนนจากพืชสมุนไพรได้แก่ ขมิ้น และตะไคร้ ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล และ 1 M กรดซัลฟูริกในน้ำ ด้วยวิธีการสกัดในอ่างอัลตราโซนิก เป็นเวลา 20 นาที และนำสารสกัดที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 273 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารเมทิลแอนทราควิโนนมากที่สุดคือ ขมิ้น เท่ากับ 6.813 %w/wพืชสด รองลงมาคือ ตะไคร้ และขมิ้น เท่ากับ 1.349 และ 0.606 %w/w พืชสด ด้วย 1%(v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล ตามลำดับ และจากการศึกษาการวิเคราะห์สารเมทิลแอนทราควิโนนด้วยปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน ผลของการวิเคราะห์ค่าร้อยละผลผลิตสารมาตรฐานเมทิลแอนทราควิโนนเท่ากับ 52 เปอร์เซ็นต์ และสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชันด้วยเทคนิค FTIR และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารสกัดด้วยวิธีทีเอ็นแอลเออร์โครมาโทกราฟีได้

คำสำคัญ : การสกัด, แอนทราควิโนน, เมทิล แอนทราควิโนน, พืช

|                        |                                                                                                           |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Research Title</b>  | Optimization for Extraction and Quantitative Analysis of Anthraquinone and Methyl Anthranilate from Plant |
| <b>Name</b>            | Ruchira Khoomsab                                                                                          |
| <b>Co – Researcher</b> | Dr.Saowapa Chumanee, Wilaiporn Pongpian,<br>Dr.Sasikarn Panpraneecharoen and Chanakan Winyakul            |
| <b>Faculty</b>         | Chemistry<br>Phetchabun Rajabhat University <b>Year</b> 2017                                              |

### ABSTRACT

This study aimed to optimum for extraction of anthraquinone from cassod tree leaves, golden shower pods and noni root by using two extraction methods. First method was 70%, 80%, 95 % (v/v) ethanol with soxhlet extraction and the second method was extracted with boiling water. The anthraquinone compounds were identified with brontrager reaction and determination of anthraquinone content with various solvent by using UV-Visible spectrophotometry at 325 nm. The result found that the highest content of anthraquinone of golden shower pods with 70% (v/v) ethanol were 193.79 mg/g dry plant. The extraction of methyl anthranilate from herbal plants such as ginger, galangal and lemon grass using two solvents: 1% (v / v) sulfuric acid in methanol and 1 M sulfuric acid in water with extracted in ultrasonic bath for 20 min. The extracts were measured for absorbance compare with calibration curve of methyl anthranilate standard at 273 nm. It was found that the highest amount of methyl anthranilate of galangal, lemon grass and ginger with 1%(v/v) sulfuric acid in methanol were 6.813, 1.349 and 0.606 %w/w fresh plant, respectively. The analysis of methyl anthranilate standard by diazotization showed that the percentage yield was 52 percent. The azo dye identification was determined by FTIR technique.

**Keywords:** Anthraquinone, Extraction, Methyl anthranilate, Plant

( ก )

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัย เรื่องการหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนทราควิโนนและเมธิลแอนทรานิลีนจากพืชสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยคำแนะนำต่างๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายฝ่าย ที่สละเวลาให้คำแนะนำและให้คำปรึกษา รวมถึงข้อเสนอแนะต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือและอนุเคราะห์อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

รุจิรา คุ่มทรัพย์และคณะ

กันยายน 2561

## สารบัญ

|                                                                                      | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย .....                                                                | ก    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....                                                             | ข    |
| กิตติกรรมประกาศ.....                                                                 | ค    |
| สารบัญตาราง .....                                                                    | ง    |
| สารบัญภาพ.....                                                                       | ช    |
| บทที่ 1 บทนำ .....                                                                   | 1    |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา .....                                             | 1    |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....                                                 | 2    |
| 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย .....                                                      | 3    |
| 1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ .....                                                            | 3    |
| 1.5 ประโยชน์ที่ได้จากการวิจัย.....                                                   | 3    |
| บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....                                         | 4    |
| 2.1 เมทิลแอนทรานิเลท (Methyl Anthranilate) .....                                     | 3    |
| 2.2 สารแอนทราควิโนน (Anthraquinones) .....                                           | 4    |
| 2.3 พฤกษศาสตร์ของพืชที่นำมาวิเคราะห์ .....                                           | 8    |
| 2.4 เทคนิคการสกัดสารจากวัตถุดิบ .....                                                | 16   |
| 2.5 วิธีการสกัดสาร.....                                                              | 17   |
| 2.6 เครื่องมือวิเคราะห์ สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer).....       | 19   |
| 2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดสาร .....                                    | 22   |
| 2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....                                                      | 24   |
| บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....                                                   | 32   |
| 3.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี .....                                                    | 32   |
| 3.2 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารเมทิลแอนทรานิเลทใน ขิง ข่า และตะไคร้ .....            | 34   |
| 3.3 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารเมทิลแอนทรานิเลทในรากขมิ้น ใบขมิ้นและเปลือกขมิ้น..... | 38   |

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

|                                                                           |           |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล .....</b>                               | <b>43</b> |
| 4.1 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารเมทิลแอนทรานิเลท (Methyl Anthranilate) ..... | 43        |
| 4.2 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารแอนทราควิโนน (Anthraquinone) .....           | 54        |
| <b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ .....</b>                          | <b>67</b> |
| 5.1 สรุปผลการวิจัย.....                                                   | 67        |
| 5.2 ข้อเสนอแนะเพื่อการต่อยอดวิจัยต่อไป .....                              | 68        |
| <b>บรรณานุกรม .....</b>                                                   | <b>70</b> |
| <b>ภาคผนวก .....</b>                                                      | <b>75</b> |
| ภาคผนวก ก ประมวลภาพงานวิจัย.....                                          | 76        |
| ภาคผนวก ข ข้อมูลดิบ .....                                                 | 79        |
| ภาคผนวก ค การคำนวณ .....                                                  | 85        |
| <b>ประวัติคณะผู้วิจัย .....</b>                                           | <b>90</b> |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่                                                                                                | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย.....                                                                      | 32   |
| 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย .....                                                        | 33   |
| 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทในตัวทำละลาย 1 % (v/v)<br>กรดซัลฟูริกในเมทานอล .....   | 46   |
| 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทในตัวทำละลาย 1 M<br>กรดซัลฟูริก .....                  | 46   |
| 4.3 เปรียบเทียบค่า Linear Regression Data ของความเข้มข้นของเมธิลแอนทราโนเลทกับ<br>ค่าการดูดกลืนแสง..... | 48   |
| 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงเมธิลแอนทราโนเลทจากสารสกัดจากขิง ข่า และตะไคร้ .....                                | 49   |
| 4.5 ปริมาณเมธิลแอนทราโนเลทในพืชสมุนไพรในหน่วย % w/w .....                                               | 49   |
| 4.6 การคำนวณหาผลผลิตร้อยละ (% Yield) จากการสังเคราะห์สีเอโซจาก<br>เมธิลแอนทราโนเลท .....                | 50   |
| 4.7 ค่าความบริสุทธิ์ (R <sub>p</sub> ) ของสารเมธิลแอนทราโนเลทที่นำไปทำการสังเคราะห์สีเอโซ ....          | 51   |
| 4.8 ค่าความบริสุทธิ์ (R <sub>D</sub> ) ของสารเมธิลแอนทราโนเลทในสารสกัด.....                             | 52   |
| 4.9 ร้อยละของสารสกัดที่ได้จากพืชแต่ละชนิด.....                                                          | 54   |
| 4.10 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของรากขยอ.....                                                          | 56   |
| 4.11 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของใบขี้เหล็ก.....                                                      | 57   |
| 4.12 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของฝักคูณ .....                                                         | 58   |
| 4.13 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ของรากขยอ .....                                               | 59   |
| 4.14 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของใบขี้เหล็ก.....                                                      | 60   |
| 4.15 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของฝักคูณ .....                                                         | 61   |
| 4.16 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของรากขยอ.....                                                          | 56   |
| 4.17 ผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนนที่ความยาวคลื่น 325 nm.....                              | 63   |
| 4.18 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ .....                                                   | 65   |

## สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่                                                                                                          | หน้า |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ผข 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดขิง ด้วยตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริก<br>ในเมทานอล .....                        | 80   |
| ผข 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดข่า ด้วยตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริก<br>ใน เมทานอล .....                       | 80   |
| ผข 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตะไคร้ ด้วยตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริก<br>ในเมทานอล .....                     | 81   |
| ผข 4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดขิง ด้วยตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก .....                                           | 81   |
| ผข 5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดข่า ด้วยตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก .....                                           | 81   |
| ผข 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตะไคร้ ด้วยตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก .....                                        | 81   |
| ผข 7 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทที่เตรียมด้วย<br>ตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล..... | 82   |
| ผข 8 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทที่เตรียมด้วย<br>ตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก .....               | 82   |
| ผข 9 ความเข้มข้นของสารสกัดรากขมิ้น ใบขมิ้น และฝักขมิ้น .....                                                      | 83   |
| ผข 10 สารสกัดหยาบของรากขมิ้น ใบขมิ้น และฝักขมิ้น ที่ได้จากตัวทำละลาย<br>70%, 80%, 95% Ethanol และน้ำ.....         | 84   |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่                                                                                         | หน้า |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 2.1 โครงสร้างของสารเมธิลแอนทรานิเลท .....                                                      | 4    |
| 2.2 โครงสร้างสารแอนทราควิโนน .....                                                             | 5    |
| 2.3 สารประกอบกลัยโคไซด์ .....                                                                  | 5    |
| 2.4 โครงสร้าง anthron form glycoside .....                                                     | 6    |
| 2.5 ลักษณะของขิง .....                                                                         | 8    |
| 2.6 ลักษณะของข่า .....                                                                         | 10   |
| 2.7 ลักษณะของตะไคร้ .....                                                                      | 11   |
| 2.8 ลักษณะรากขยอ .....                                                                         | 13   |
| 2.9 ลักษณะใบขี้เหล็ก .....                                                                     | 14   |
| 2.10 ลักษณะฝักกุน .....                                                                        | 15   |
| 2.11 การสกัดโดยใช้ Soxhlet Extractor .....                                                     | 19   |
| 2.12 องค์ประกอบของเครื่อง UV - Visible spectrophotometer .....                                 | 21   |
| 3.1 การรวมตัวกันของเอมีนด้วยกรดซัลฟูริก .....                                                  | 35   |
| 3.2 การเกิดปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชันในการสังเคราะห์สีเอโซจากสารมาตรฐานเมธิล<br>แอนทรานิเลท .....  | 37   |
| 3.3 เครื่อง FTIR รุ่น Spectrum TWO .....                                                       | 38   |
| 3.4 ลักษณะ (ก) รากขยอ (ข) ใบขี้เหล็ก (ค) ฝักกุน .....                                          | 39   |
| 3.5 พืชที่ผ่านการทำให้แห้งแล้วบดเป็นผง (ก) ผงรากขยอ (ข) ผงใบขี้เหล็ก (ค) ผงฝักกุน .....        | 39   |
| 4.1 การสแกนหาค่าความยาวคลื่นที่ความเข้มข้น 20 mg/L ใน 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกใน<br>เมทานอล ..... | 43   |
| 4.2 การสแกนหาค่าความยาวคลื่น ที่ความเข้มข้น 5 mg/L ใน 1 M กรดซัลฟูริก .....                    | 43   |
| 4.3 การดูดกลืนแสงของสารเมธิลแอนทรานิเลทใน acetonitrile : น้ำ อัตราส่วน 70:30 .....             | 45   |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่                                                                                              | หน้า |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 4.4 กราฟมาตรฐานเมธิลแอนทรานิเลทในตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกที่ความยาวคลื่น 273 นาโนเมตร ..... | 47   |
| 4.5 กราฟมาตรฐานเมธิลแอนทรานิเลทในตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริกที่ความยาวคลื่น 273 นาโนเมตร .....       | 47   |
| 4.6 สีเอโซ (azo dye) ที่ได้จากปฏิกิริยา diazotization .....                                         | 50   |
| 4.7 การเคลื่อนที่ของสีเอโซในการทดสอบความบริสุทธิ์ด้วยวิธี TLC ใน UV lamp 254 nm .                   | 51   |
| 4.8 การเคลื่อนที่ของสารสกัดในการทดสอบความบริสุทธิ์ด้วยวิธี TLC ใน UV lamp 254 nm                    | 52   |
| 4.9 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมธิลแอนทรานิเลทด้วยเครื่อง FTIR .....                        | 53   |
| 4.10 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสีเอโซด้วยเครื่อง FTIR .....                                           | 53   |
| 4.11 ร้อยละสารสกัดของพืชแต่ละชนิด.....                                                              | 55   |
| 4.12 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสีเอโซด้วยเครื่อง FTIR .....                                           | 53   |
| 4.13 ค่าการดูดกลืนสูงสุดของสารละลายมาตรฐานแอนทราควิโนน .....                                        | 62   |
| 4.14 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานแอนทราควิโนน .....                                                | 62   |
| 4.15 แสดงปริมาณสารแอนทราควิโนนที่ได้จากรากขมิ้น ใบขมิ้นและฝักขมิ้น.....                             | 64   |
| 4.16 แสดงปริมาณแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ที่ได้จากรากขมิ้น ฝักขมิ้น และใบขมิ้น.....                     | 65   |
| ผก 1 การสกัดด้วยเครื่อง Ultrasonic bath .....                                                       | 77   |
| ผก 2 การแยกสารสกัดออกจากพืชตัวอย่างด้วยการปั่นเหวี่ยง.....                                          | 77   |
| ผก 3 สารสกัดที่ได้จาก ขมิ้น ข่า และตะไคร้ ด้วยตัวทำละลาย 1% (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล.....         | 77   |
| ผก 4 สารสกัดที่ได้จาก ขมิ้น ข่า และตะไคร้ ด้วยตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก.....                       | 78   |
| ผก 5 การควบคุมอุณหภูมิ 5 °C ในการสังเคราะห์สีเอโซของสารมาตรฐานเมธิลแอนทรานิเลท .....                | 78   |
| ผก 6 สีเอโซจากการสังเคราะห์สีเอโซสารเมธิลแอนทรานิเลท .....                                          | 78   |

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สมุนไพรได้เข้ามามีบทบาทควบคุมกำจัดสัตว์รบกวนหลายชนิด ทั้งนี้เป็นเพราะการใช้สารเคมีกำจัดส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากมาย ทั้งทางด้านคุณภาพและความสมดุลของสภาพแวดล้อมในธรรมชาติ ทำให้วัฏจักรของสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิตที่ต้องพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกันในระบบนิเวศน์มีประสิทธิภาพลดลง ปัจจุบันมีการนำสมุนไพรมาควบคุมสัตว์เพื่อป้องกันความเสียหายในผลิตผลทางการเกษตรจำนวนมาก โดยเฉพาะใช้สมุนไพรเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืช อย่างไรก็ตามศัตรูพืชทางการเกษตรมีได้มีเพียงแมลงเพียงอย่างเดียว แต่กลับมีกลุ่มสัตว์มีกระดูกสันหลังบางชนิด เช่น นก และหนู ที่สร้างความเสียหายให้กับพืชผลทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก เช่น นาข้าวหรือไร่ข้าวที่กำลังออกรวง จะมีฝูงนกอพยพหนีหนาวนานาชนิดลงไปหากินทำให้นาข้าวเสียหายกว่า 500 ไร่ การป้องกันหรือขับไล่ในกในช่วงเวลาข้าวออกรวงจึงมีความสำคัญยิ่ง ปัจจุบันมีการใช้สมุนไพรเพื่อเป็นสารขับไล่ในกที่มีรายงานในต่างประเทศได้ใช้สารสกัดแอนทราควิโนน (Anthraquinone) และ เมทิล แอนทราลิเนท (Methyl anthranilate) จากพืชใช้เป็นสารฉีดพ่นเพื่อป้องกันนกทำลายความเสียหายให้กับพืชในแปลงเกษตร (Linz, 2012; Warner และคณะ, 2014)

แอนทราควิโนนและ เมทิล แอนทราลิเนท เป็นพฤษเคมีในพืชมีประโยชน์ทั้งในสรรพคุณทางยา และเป็นสารเติมแต่งในอาหาร สำหรับในต่างประเทศแอนทราควิโนน และ เมทิล แอนทราลิเนทถูกนำมาใช้ในการเป็นสารขับไล่ในก โดยมีฤทธิ์เป็นยาระบาย นอกจากนี้ยังใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีในอุตสาหกรรมกระดาษและสารตั้งต้นในการผลิตสีและรงควัตถุหลายชนิด การสกัดแอนทราควิโนนจากพืชสมุนไพรมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี Gritsanapan and Nualkeaw (2003) นำใบจี่เหล็ก (*Cassia siamea*) มาสกัดเพื่อหาปริมาณทั้งหมดของแอนทราควิโนน ( $2 \text{ mg g}^{-1}$  มวลแห้ง) และแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ ( $1.2 \text{ mg g}^{-1}$  มวลแห้ง) ซึ่งใช้ขั้นตอนสกัดถึง 9 ขั้นตอน มีการเติมกรดไฮโดรคลอริก, คลอโรฟอร์ม,  $\text{NaHCO}_3$ , ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์, อีเทอร์, แมกนีเซียมอะซิเตต และเมทานอลระหว่างกระบวนการสกัด เหตุที่การสกัดมีความสลับซับซ้อนเนื่องมาจากโครงสร้างของแอนทราควิโนน เป็นวงแหวนเบนซีนเรียงต่อกัน ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ทำให้ละลายในน้ำและสารละลายมีขี้ได้ไม่ดี ในส่วนงานวิจัยของวงศ์วัฒน์ เตมียบุตร และคณะ (2551) ได้เปรียบเทียบปริมาณสารแอนทราควิโนนในผงราก ลำต้น เปลือกและใบ ของต้นข่อย พบว่าส่วนรากมีปริมาณแอนทราควิโนนสูง ตามด้วยลำต้น เปลือก และใบ อย่างไรก็ตาม

ตาม มีพืชอีกจำนวนหลายชนิดในประเทศไทยมีแอนทราควิโนน และเมทิล แอนทราลิเนท สะสมอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของพืช ในการสกัดสารสำคัญจากส่วนต่าง ๆ ของพืช ได้แก่ ราก ลำต้น เปลือก แก่น ใบ ดอก เมล็ด ผล จะมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเหมือนกันหรือแตกต่างกัน ซึ่งในการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านยา จำเป็นต้องระบุส่วนที่จะนำมาใช้ หรืออาจใช้ทั้งต้นหรือที่เรียกว่าใช้ทั้งห้า (ราก ต้น ใบ ดอก และผล) และบางชนิดใช้สด ๆ บางชนิดต้องทำให้แห้ง อีกทั้งฤดูกาลในการเก็บพืชสมุนไพร ช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยว ก็มีความสำคัญ แต่การค้นคว้าและวิจัยในด้านนี้ยังมีไม่มากและยังไม่มีตัวชี้บ่งว่าควรเก็บในเวลาใด จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการวิจัย เพื่อให้พืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ ส่งผลให้เกิดประโยชน์สูงสุด สารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ที่พบในพืชสมุนไพรที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์นั้นส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มสารที่จัดเป็นสารเมทาโบไลต์ทุติยภูมิ ปริมาณการสังเคราะห์สารดังกล่าวจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสารข้างต้นด้วย ดังนั้นการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ทั้งปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายในที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพร จึงมีบทบาทสำคัญต่อการหาแนวทางในการเพิ่มผลผลิตที่เป็นสารออกฤทธิ์ (ชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์) และผลผลิตที่เป็นมวลชีวภาพ (น้ำหนักแห้ง/น้ำหนักสด) ของพืชสมุนไพรให้สูงขึ้น และเพียงพอต่อการนำมาใช้ประโยชน์ในเชิงเศรษฐกิจ

จากการประมวลองค์ความรู้ พบการศึกษาในด้านนี้ ยังอยู่ในวงจำกัดเพราะต้องใช้เทคนิควิธีการเฉพาะ และต้องใช้บุคลากรที่มีความรู้ ความชำนาญเฉพาะด้าน ผลงานวิจัยจึงยังไม่หลากหลายเท่าที่ควร ดังนั้นควรที่จะได้มีการศึกษาวิจัย เพื่อพัฒนาองค์ความรู้จากภูมิปัญญาชาวบ้านหาสารสกัดที่พบในพืชด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกันเพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ปริมาณสูงและมีคุณภาพสูงสุด ซึ่งในการศึกษาวิจัยต่อไปนั้นจะต้องได้รับความร่วมมือและสนับสนุนจากทั้งภาครัฐและเอกชนเพื่อให้สามารถนำผลการวิจัยเกี่ยวกับพืชพื้นเมืองไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเป็นรูปแบบต่อไป สำหรับในประเทศไทยใช้วิธีการนำเข้าสู่สารแอนทราควิโนน และ เมทิล แอนทราลิเนท ทำให้สารดังกล่าวมีราคาแพง ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะพัฒนาเทคนิคการสกัดหาสารแอนทราควิโนน และเมทิล แอนทราลิเนทในพืชที่พบในท้องถิ่น ประโยชน์จากผลการศึกษาจะสามารถนำไปใช้ในการขับเคลื่อนในแปลงเกษตร ได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีคุณภาพในการผลิตสารสกัดต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาปริมาณสารแอนทราควิโนนและเมทิลแอนทราลิเนตจากพืช

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารแอนทราควิโนนและเมทิลแอนทราลิเนตจากพืชด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

### 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช ได้แก่ วิธีการต้ม วิธีซอห้กเลท
- 1.3.2 พืชที่นำมาสกัด ได้แก่ ขอ คุณ ขี้เหล็ก มะกรูด จิง ข่า และ ตะไคร้
- 1.3.3 ศึกษาปริมาณแอนทราควิโนน และเมธิล แอนทรานิเลตที่สกัดได้จากพืชต่างชนิด

### 1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.4.1 สมุนไพร ตามพจนานุกรม ราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2542 หมายถึง "ผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก พืช สัตว์ และแร่ธาตุ ที่ใช้เป็นยา หรือผสมกับสารอื่นตามตำรับยา เพื่อบำบัดโรค บำรุง ร่างกาย หรือใช้เป็นยาพิษ

1.4.2 พืชสมุนไพรตัวอย่าง คือ พืชสมุนไพรที่ใช้ในการสกัดสารแอนทราควิโนนและเมธิลแอนทรานิเลต ในการวิจัยครั้งนี้ คือ ขอ คุณ ขี้เหล็ก มะกรูด จิง ข่า และ ตะไคร้

### 1.5 ประโยชน์ที่ได้จากการวิจัย

1.5.1 ทำให้ทราบปริมาณสารแอนทราควิโนนและเมธิลแอนทรานิเลต ในตัวอย่างพืชสมุนไพรตัวอย่าง

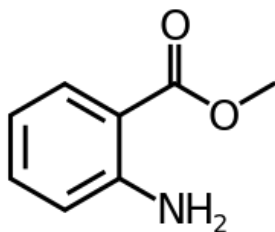
1.5.2 เป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการสกัดสารแอนทราควิโนนและเมธิลแอนทรานิเลตในสมุนไพรและพืชชนิดอื่นๆ

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 เมซิลแอนทรานิลเลท (Methyl Anthranilate)

เมซิลแอนทรานิลเลท มีลักษณะเป็นสารเหลืองใส ไวต่อการทำปฏิกิริยากับแสง มีสูตรโมเลกุลคือ  $C_8H_7NO_2$  มีน้ำหนักโมเลกุล 151.16 กรัมต่อโมล จุดหลอมเหลว 24 องศาเซลเซียส จุดเดือด 256 องศาเซลเซียส ความหนาแน่น 1.1680 กรัมต่อมิลลิลิตร (Kugler, 1963) มีค่าการละลายน้ำ 2.85 กรัมต่อลิตร พบได้ในส่วนผสมของสารเติมแต่งอาหาร พบได้ในอุณหภูมิต่างๆ มีรายงานจำนวนมากที่นำเมซิลแอนทรานิลเลทมาใช้ในการเป็นสารขับไล่แมลง อีกทั้งยังมีความปลอดภัยกับมนุษย์เนื่องจากมีการใช้เมซิลแอนทรานิลเลทในการให้ความหอมในสเปาและยังเป็นสารปรุงแต่งอาหารอีกด้วย



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของสารเมซิลแอนทรานิลเลท

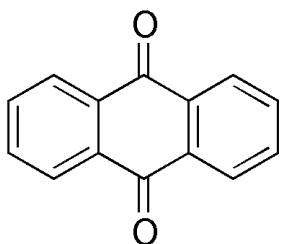
สารเมซิลแอนทรานิลเลท พบได้ในส่วนผสมของสารเติมแต่งในอาหาร ตามธรรมชาติมักพบใน องุ่นคอนคอร์ด และในองุ่นสายพันธุ์อื่นๆ ในวงศ์เดียวกัน นอกจากนั้นยังพบใน เบอร์กาม็อท (มะกรูดเหลือง) แคลร์ริง จำปา พุดซ้อน มะลิ เลมอน ส้มแมนดาริน น้ำมันหอมระเหยเนโมลี ส้มสตอรี่เบอร์รี่ ช่อนกลิ่น วิสทีเรีย, ป่า และกระดังงา นอกจากนี้ยังเป็นส่วนประกอบหลักที่สำคัญของ ethyl acetate และ ethyl butyrate (Fraternale et al, 2011)

#### 2.2 สารแอนทราควิโนน (Anthraquinones)

##### 2.2.1 แอนทราควิโนน (Anthraquinones)

แอนทราควิโนนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีกลิ่นหอมอยู่ในกลุ่มควิโนน (quinone) มีสูตรโมเลกุล  $C_{14}H_8O_2$  มีน้ำหนักโมเลกุล 208.22 กรัม/โมล โครงสร้างของสารประกอบด้วยวงเบนซีน 3 วงทำพันธะต่อกัน แอนทราควิโนนเกือบทุกตัวมีจุดหลอมเหลวสูง พบได้ทั้งในพืช แมลง และ

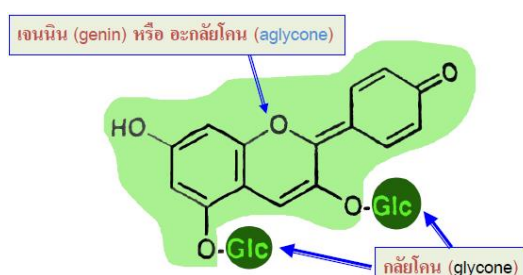
จุลชีพ ในพืชชั้นสูงพบได้ทั้งใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ ในธรรมชาติพบได้ทั้งในรูปอิสระและรูป  
 กลัยโคไซด์ ซึ่งส่วนมากจะพบเป็นชนิด O-Glycoside มีบ้างที่พบในรูป C-Glycoside ตัวอย่างพืชที่  
 พบแอนทราควิโนน ได้แก่ ใบและฝักมะขามแขก ฝักคูณ เปลือกใบว่านหางจระเข้ ใบชุมเห็ดเทศ  
 ลำต้นใต้ดินของโกฐน้ำเต้า ใบจีเหล็ก และทรงบาดาล



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างสารแอนทราควิโนน

### 2.2.2 แอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ (Anthraquinone glycoside)

กลัยโคไซด์ หมายถึง สารประกอบอินทรีย์ที่เกิดจาก aglycone (หรือ genin) จับกับส่วน  
 ที่เป็นน้ำตาล (glycone part) หรืออนุพันธ์ของน้ำตาล โดยผ่านทาง glycosidic bond พบมากในพืช  
 ชั้นสูง พบน้อยในพืชชั้นต่ำ ส่วนของพืชที่พบกลัยโคไซด์ เช่น ใบ ดอก ผล เมล็ด เปลือก ราก หัว  
 เป็นต้น ชนิดของกลัยโคไซด์ เช่น แอนทราควิโนน กลัยโคไซด์ ( Anthraquinone glycosides )  
 มีส่วน aglycone เป็นอนุพันธ์ของ anthracene มีฤทธิ์เป็นยาระบาย และชาถ่าย ตัวอย่างกลัยโคไซด์  
 ในกลุ่มนี้ได้แก่ emodin, aloe-emodin และ sennoside

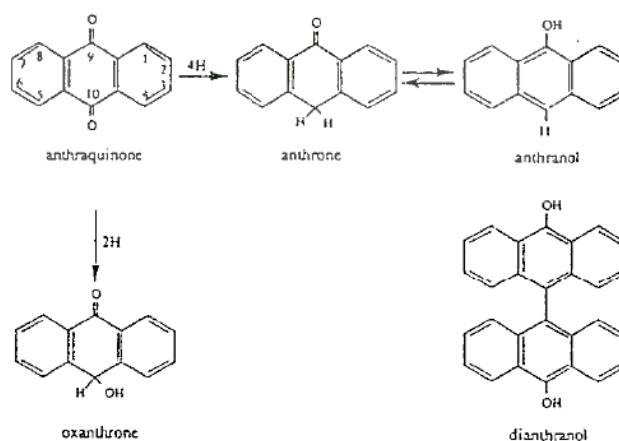


ภาพที่ 2.3 สารประกอบกลัยโคไซด์

ที่มา : กิตติศักดิ์ แคล้วจันทร์สุข, 2559

แอนทราควิโนนกลัยโคไซด์เป็นอนุพันธ์ของสาร Anthracene อย่างหนึ่ง ในรูป Anthraquinone และอนุพันธ์ reduced form คือ Oxanthrone anthranol และ anthrones สาร anthraquinone ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาระบายโครงสร้าง phenolic group ที่ C<sub>4</sub> และ C<sub>8</sub> และ keto group ที่ C<sub>9</sub> และ C<sub>10</sub> ถ้าเป็น anthron และ anthranol จะมี O<sub>2</sub> ที่ตำแหน่ง C<sub>9</sub> นอกจากนี้อาจมี methyl oxymethyl ที่ C<sub>3</sub> และมี hydroxyl หรือ methyl group ที่ C<sub>6</sub>

สารประกอบนี้ส่วนมากปรากฏในพืชในรูป O – glycosides พบได้ในรูปอิสระและที่รวมกับรูปกลัยโคไซด์ การเชื่อมเป็น glycoside โดยมากจะเป็นที่ C<sub>1</sub>, C<sub>8</sub> หรือ C<sub>6</sub> โครงสร้างที่เป็น anthron form glycoside จะเป็น C – glycoside ที่มี C - C bond ที่ C<sub>10</sub> สำหรับน้ำตาลที่ทราบจะเป็น glucose rhamnose และ apiose ไม่ว่าจะเป็น O – glycoside หรือ C – glycoside สารพวกนี้ที่พบได้ในพืชอยู่ในสภาพ carboxylated methylated หรือ hydroxylated derivatives ของ anthraquinone anthron dianthron oxanthron anthranol และในรูป dimer คือ dianthranol (ถนอมศรี วงศ์รัตนสถิตย์, 2533 : 78)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้าง anthron form glycoside

ที่มา : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2534 : 53

Anthraquinone glycoside เป็นสารที่มีสีแดง – ส้ม แต่อาจจะพบได้ตั้งแต่สีเหลืองจนถึงน้ำตาล ส่วนอะกลัยโคนของ Anthraquinone จะละลายได้ดีในด่าง ให้สีชมพู – แดง ละลายได้ใน organic solvents เช่น เบนซีน อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม Anthraquinone เกือบทุกตัวจะมีจุดหลอมเหลวสูง Anthraquinone ที่พบในพืชชั้นสูงส่วนใหญ่จะถูก hydroxylated ที่ C<sub>1</sub> และ C<sub>2</sub> ในธรรมชาติจะพบเป็นชนิด O – glycoside เช่น aloin (barbaloin) น้ำตาลที่พบส่วนมากเป็น glucose primeverose อาจพบ rhamnose ได้บ้าง Anthraquinone glycoside ที่พบอาจมี aglycone เป็น reduced form ของ Anthraquinone ได้ อนุพันธ์ของ Anthraquinone พบได้หลายแบบ ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับอายุของพืช เช่น

ใน common rhubarb (*rheum undulatum*) ในใบอ่อนจะพบ Anthranol glycoside เป็นส่วนใหญ่ ส่วนในใบแก่จะพบเป็น glycoside ของ Anthraquinone (ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์, 2533 : 80)

### 2.2.3 ประโยชน์ของสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์

เป็นกลุ่มสารประกอบธรรมชาติประเภทหนึ่งที่ใช้เป็นยาระบายอย่างกว้างขวาง (สรศักดิ์ เหลียวไชยพันธ์, 2534 : 72)ฤทธิ์ของแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ที่เด่น ก็คือ การออกฤทธิ์เป็นยาระบายหรือยาถ่าย โดยออกฤทธิ์บริเวณลำไส้ส่วนปลาย กลัยโคไซด์จะถูกดูดซึมจากลำไส้เข้าไป หลังจากถูกไฮโดรไลซ์แล้วจึงจับเฉพาะส่วน อะกลัยโคนซึ่งเป็นส่วนที่ออกฤทธิ์กลับคืนออกมาจากลำไส้อีกครั้ง และออกฤทธิ์บริเวณลำไส้ส่วนปลาย โดยที่กระตุ้นและเพิ่มการบีบตัวของลำไส้ใหญ่เป็นลักษณะการออกฤทธิ์เฉพาะที่ตรงส่วนผนังของลำไส้โดยตรง ผลที่เกิดตามมาก็คือ ลดการดูดซึมน้ำจากลำไส้ทำให้กากอาหารมีปริมาณมากขึ้น ขณะเดียวกันกากอาหารก็จะอ่อนตัวและระบายหรือถ่ายออกมาได้ง่าย การถ่ายจะเกิดขึ้นหลังจากรับประทานยาไปแล้วประมาณ 6-10 ชั่วโมง (ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์, 2533 : 86) นอกจากนี้ยังใช้ประโยชน์ในการเป็นสีย้อม ใช้เป็นยารักษาโรคผิวหนังอีกด้วย (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2534 : 55)

สารแอนทราควิโนนที่นำมาใช้เป็นยาถ่าย – ยาระบาย ได้แก่

- 1) Sennoside A และ sennoside B เป็นแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ที่พบในใบและฝักมะขามแขก ใช้เป็นยาระบายสำหรับคนที่ท้องผูกเป็นประจำ
- 2) aloin หรือ barbalion เป็นแอนทราควิโนน C – glycoside พบในส่วนเปลือกใบของต้นว่านหางจระเข้ ใช้เตรียมยาคำ ซึ่งใช้เป็นยาถ่าย
- 3) glucoaloe – emodin และ aloe – emodin
- 4) chrysophanein และ chrysophanol
- 5) glucorhein และ rhein
- 6) emodin หรือ frangula – emodin (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2534 : 55-56)

### 2.2.4 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์

สารในกลุ่มนี้ประกอบด้วยส่วนของ aglycone ของ anthraquinones และน้ำตาล ซึ่ง anthraquinones มีคุณสมบัติละลายได้ดีในด่าง แล้วเกิดเป็นสีชมพูหรือแดง ดังนั้นจึงไฮโดรไลซ์ anthraquinones glycosides ด้วยกรดหรือด่าง หรือ  $\text{FeCl}_3$  หรือ sodium dithionate ให้กลายเป็น aglycone ของ anthraquinones แล้วจึงสกัดออกมาด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ จากนั้นนำชั้นตัวทำละลายอินทรีย์มาทดสอบกับด่างจะพบสีชมพูแดง การทดสอบนี้เรียกว่า Borntrager test (อุคมเดชพลเยี่ยม และ อัญชนะนา ขัตติยะวงศ์, 2557)

## 2.3 พฤกษศาสตร์ของพืชที่นำมาวิเคราะห์

### 2.3.1 จิง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Zingiber officinale* Roscoe

ชื่อวงศ์ : Zingiberaceae

ชื่อสามัญ : Ginger, Zingiber



ภาพที่ 2.5 ลักษณะของจิง

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ :

จิงเป็นพืชไร่และยังจัดเป็นพืชผักประเภทหนึ่งชนิดล้มลุก

ลำต้น มีลำต้นใต้ดินเรียกว่า เหง้าหรือแง (rhizome) เจริญขึ้นเป็นกอ ลำต้นแท้มีลักษณะเป็นข้อๆแข็ง มีสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน มีเยื่อและเกล็ดเล็กๆห่อหุ้ม จะแตกขนานไปกับพื้นดินลักษณะการแตกแขนงเป็นแบบนิ้วมือคือ แงอันแรกจะเจริญและแตกแงย่อยๆต่อกันไป เหง้าหรือ

ลำต้นใต้ดินนี้สามารถดำรงชีวิตข้ามฤดูหรือหลายฤดู ซึ่งต่างจากลำต้นเหนือดินที่มีอายุได้เพียงฤดูเดียวหรือประมาณ 8-12 เดือน ลำต้นส่วนเหนือดินจะเป็นลำต้นเทียม (clump) ส่วนนี้ประกอบด้วย กาบใบซ้อนทับกันหลายๆชั้น เจริญจากตาที่ปรากฏอยู่บนแงของจิง ลำต้นมีความสูงประมาณ 50-100 เซนติเมตร

ใบ เป็นใบเดี่ยว รูปหอกแกว่งๆ ยาวประมาณ 15-17 เซนติเมตร และกว้างประมาณ 1.8-3 เซนติเมตร ใบออกเรียงสลับกันเป็นสองแถว หลังใบห่อจับเป็นรูปร่างน้ำ ปลายใบสอบเรียวแหลม โคนใบสอบแคบและจะเป็นกาบหุ้มลำต้นเทียม

ผล มีลักษณะ แฉ่ง โต มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร

### พันธุ์ชิง

พันธุ์ชิงที่นิยมปลูกในประเทศไทย แยกได้เป็น 2 ประเภท คือ

1) ชิงใหญ่หรือชิงหยวกหรือชิงขาว ลักษณะง่าใหญ่ ขื่อห่าง เนื้อละเอียด มีเสี้ยนน้อยมาก รสไม่เผ็ดจัด เมื่อลอกเปลือกออกเนื้อในไม่มีสีหรือมีสีเหลืองเรื่อๆ ตาที่ปรากฏบนง่ามีลักษณะกลมมน ปลายใบป้านและมีความสูงมากกว่าชิงเล็ก เหมาะสำหรับรับประทานเป็นชิงอ่อนหรือชิงดอง ชิงชนิดนี้มีจำหน่ายมากมายในท้องตลาด

2) ชิงเล็กหรือชิงเผ็ด บางแห่งเรียกว่า ชิงดำ ลักษณะเป็นง่าเล็ก สั้น ขื่อถี่ เนื้อมีเสี้ยนมาก และรสค่อนข้างเผ็ด เมื่อลอกเปลือกออกแล้วเนื้อมีสีน้ำเงินหรือน้ำเงินปนเขียว ตาบนง่ามีลักษณะแหลม ปลายใบแหลม การแตกกอดี นิยมใช้ทำยาสมุนไพรและทำชิงแห้งเพราะให้น้ำหนักดีกว่าชิงหยวก แต่ไม่นิยมปลูกขายในลักษณะของชิงอ่อน

### สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

ดิน ชิงชอบดินร่วนซุย มีการระบายน้ำดี ควรเป็นดินร่วนปนทรายหรือดินเหนียวปนทรายที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง ในการปลูกจะให้ผลดีจะต้องเตรียมดินปลูกให้มีสภาพเหมาะสม ชิงสามารถปลูกได้ดี ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนกระทั่งความสูงประมาณ 1,500 เมตร

อุณหภูมิ ชิงชอบอากาศชื้นและมีอุณหภูมิสูงพอสมควร

น้ำ ชิงเป็นพืชที่ต้องการน้ำมาก ไม่ชอบขึ้นในที่ลุ่มและมีน้ำขัง เพราะจะทำให้เหง้าเน่าได้ง่าย สถานที่ปลูกชิงต้องมีที่กำบังแดดไม่ให้แดดส่องถูกกับชิงโดยตรง ถ้าถูกแสงแดดส่องมากๆ แปลงปลูกจะร้อนซึ่งจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ชิงไม่งอกหรือชิงอาจจะเน่าได้ วัสดุปลูกแสงอาจจะใช้ ทางมะพร้าว ใบจาก ใบหญ้าคา ฟางข้าว ไม้ไผ่หรือไม้ระแนงก็ได้ (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535)

### คุณสมบัติ

- 1) ช่วยขับลม ช่วยขยายหลอดเลือดได้ผิวหนัง
- 2) ช่วยย่อยอาหารให้เร็วขึ้น เจริญอาหาร
- 3) แก้อักเสบแน่นท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ คลื่นไส้อาเจียน
- 4) ขับเสมหะ
- 5) ทำให้เหง้าออกมา ปรับอุณหภูมิในร่างกายให้รู้สึกกระชุ่มกระชวย

### 2.3.2 ข่า

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ : *Alpinia galangal*

ชื่อวงศ์ : Zingiberraceae

ชื่อสามัญ : Galanga



ภาพที่ 2.6 ลักษณะของข่า

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ข่า เป็นพืชล้มลุก ปลูกลงง่าย ข่ามีเหง้าใหญ่และต้นใหญ่กว่าขิง

ลำต้น เป็นพืชล้มลุกมีอายุหลายปี มีเหง้าใต้ดินเลื้อยขนานกับผิวดิน มักจะแตกแขนงเป็นง่าม

ใบ เป็นใบเดี่ยว ใบยาว ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ ก้านใบแผ่เป็นกาบหุ้มข้อ ก้านดอกล้ำยอดลำต้น

ดอก ออกเป็นช่อที่ยอด ก้านช่อดอกมีขน ดอกย่อยคล้ายดอกกล้วยไม้

ผล มีลักษณะกลมหรือค่อนข้างรี มีกลีบเลี้ยงติดอยู่ ผลแก่มีสีส้ม

(รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535)

#### พันธุ์ข่า

1) ข่าเล็ก เป็นข่าพื้นเมืองของเกาะไหหลำ พบปลูกในบางพื้นที่ของภาคใต้ ลำต้นมีขนาดเล็ก เหง้ามีสีน้ำตาลปนแดง เนื้อเหง้ามีสีเหลือง มีกลิ่นฉุน และรสเผ็ดร้อนมาก นิยมมาประกอบอาหารบ้าง แต่ส่วนมากใช้ประโยชน์ทางยา โดยพบน้ำมันหอมระเหย ประมาณ 0.3-1.5% พบสารประกอบฟีนอล 4 ชนิด คือ trans-p-Coumaryl diacetate, 4-Hydroxycinnamoylaldehyde, 1'-Acetoxychavicol acetate และ  $\beta$ -Sitosterol

2) ข่าป่า เป็นข่าที่พบได้ทั่วไปในป่าเบญจพรรณ และป่าดิบชื้น มีลักษณะลำต้นสูง ลำต้น และใบคล้ายกับข่าที่ปลูกทั่วไป หัวมีกลิ่นฉุนน้อย

- 3) ข่าลิง (ข่าน้อย) มีลักษณะลำต้นเล็ก มีสารประกอบฟีนอลหลายชนิด เช่น 1, 7-diphenyl-3, 5-heptanedione, flavonoids, diarylheptanoids และ phenylpropanoids
- 4) ข่าคม มีลักษณะใบมน มีขนละเอียดสีขาวปกคลุมทั้งสองด้าน ดอกมีใบประดับกลีบดอกสีขาว แผ่เป็นแผ่น และมีแถบสีเหลืองส้มบริเวณกลางกลีบดอก
- 5) ข่าน้ำ (เร่ว,กะลา) เป็นข่าพื้นบ้านที่ปลูกเพื่อจำหน่ายของ อำเภอบางเกตุ จังหวัดนนทบุรี เหนือมีรสจืดกว่าข่า ช่อดอกสีชมพู (เพื่อนเกษตร, 2560)
- สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม**
- พื้นที่ชุ่มชื้นและ เช่น ริมคลองหรือริมตลิ่ง ซึ่งดินมีความชื้นสูง เหมาะแก่การปลูก ข่า(รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535)

#### คุณสมบัติ

- 1) รักษาอาการเคลื่อนไหว
- 2) แก้ลมพิษ
- 3) แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับลม แก้บิด
- 4) ใช้บริโภคเป็นผักสด (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535)

### 2.3.3 ตะไคร้

|                      |                                  |
|----------------------|----------------------------------|
| ชื่อทางวิทยาศาสตร์ : | <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) |
| ชื่อวงศ์ :           | Graminae                         |
| ชื่อสามัญ :          | Lemongrass                       |



ภาพที่ 2.7 ลักษณะของตะไคร้

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ตะไคร้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวประเภทล้มลุก เจริญเติบโตรวมอยู่เป็นกอ ใบและหัวมีกลิ่นหอม

ราก เป็นระบบรากฝอย

ลำต้น อยู่บนดินรวมกันเป็นกอแน่น มีสีเขียวและสีม่วงอ่อน ลำต้นเป็นรูปทรงกระบอก มีลักษณะแข็งเกลี้ยง ตามปล้องมักมีใบปกคลุม ลำต้นสูงไม่เกิน 1 เมตร

ใบ เป็นใบเดี่ยว มีลักษณะยาวรีวค้ำใบข้าว ใบรูปขอบขนานแคบ ใบกว้างประมาณ 2 เซนติเมตร ยาวได้ถึง 100 เซนติเมตร ปลายใบแหลมผิวใบทั้งสองด้านมีลักษณะสาบมือ เส้นกลางใบแข็ง ตรงรอยต่อระหว่างกาบใบและตัวใบมีเกล็ดบางๆ ประมาณ 2 มิลลิเมตร ตามขอบใบมีขนเล็กน้อย

ดอก ออกเป็นช่อขนาดใหญ่ ช่อดอกย่อยมีก้านออกเป็นคู่ๆ แต่ละช่อรองรับด้วยใบประดับ ช่อดอกย่อยประกอบด้วยดอกย่อยออกเป็นคู่ๆ ดอกหนึ่งมีก้านอีกดอกหนึ่งไม่มีก้าน ภายในดอกย่อยแต่ละดอกประกอบด้วยดอกเล็กๆ 2 ดอก ดอกด่างลวดรูปมีเพียงกลีบเดียวโปร่งแสง ปลายเรียวแหลม ดอกบนในดอกย่อยที่ไม่มีก้านจะเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ส่วนดอกบนของดอกย่อยที่มีก้านจะเป็นดอกเพศผู้หรือเป็นหมัน

ผล มีขนาดเล็กเปลือกบางๆห่อหุ้ม

เมล็ด มีแป้งสะสมค่อนข้างมาก (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535)

### ชนิดตะไคร้

- 1) ตะไคร้กอ
- 2) ตะไคร้ต้น
- 3) ตะไคร้หางนาค
- 4) ตะไคร้ไฉ่น้ำ
- 5) ตะไคร้หางสิงห์
- 6) ตะไคร้หอม

### คุณสมบัติ

- 1) แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ แน่นจุกเสียด ขับลม แก้อาการเกร็ง ขับเหงื่อ
- 2) เป็นยาขับปัสสาวะ แก้นิ่ว แก้ปัสสาวะพิการ แก้ปัสสาวะเป็นเลือด
- 3) ลดความดันโลหิตสูง
- 4) ใช้ปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ใช้ดับกลิ่นคาวของอาหาร ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องแกงต่างๆ (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535)

### 2.3.4 ยอ

ชื่ออื่นๆ : มะตาเสือ (เหนือ), แะใหญ่ (กระเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) และยอบ้าน (ทั่วไป)

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ : *Morinda cirifolia* Linn.

ชื่อวงศ์ : RUBIACEAE

ชื่อสามัญ : Great morinda



ภาพที่ 2.8 ลักษณะรากยอ

**ลักษณะทั่วไป :** เป็นพรรณไม้ยืนต้นขนาดเล็กจะแตกกิ่งก้านสาขาไม่มากนัก ผิวของลำต้นเป็นสีน้ำตาลเทาๆ เกือบขาว สูงประมาณ 1-6 เมตร มีใบเดี่ยวออกเรียงกันเป็นคู่ๆ ไปตามข้อ ต้นลักษณะเป็นรูปมนรี ปลายและโคนจะแหลม ขอบใบเป็นคลื่น ผิวใบมัน สีเขียว กว้างประมาณ 2.5-7 นิ้ว ยาว 6-12 นิ้ว มีดอกออกเป็นช่ออยู่ตามง่ามใบ มีสีขาวขนาดเล็ก ส่วนผลเป็นรูปกลมๆ หรือรูปรี ผิวจะเป็นตุ่มๆ รอบๆ ผลเมื่อยังอ่อนสีเขียว พอแก่ทานได้เป็นสีขาวอมเขียว หรือออกเหลืองๆ (พจนานัด สุขช่วง, 2554)

**ส่วนที่พบสารแอนทราวิโนน :** ราก ผลและใบ

**การใช้ประโยชน์ :** เป็นยาระบาย และสามารถใช้เป็นสีย้อมผ้า โดยเปลือกรากจะให้สีแดง เนื้อรากจะให้สีเหลือง แต่ถ้าใช้โดยไม่แยกส่วนก็จะได้สีเหลืองปนแดง ฉะนั้นถ้าจะให้สีต่างกันออกไปก็ต้องนำโลหะต่างชนิดกันมาผสม เช่น ได้สีน้ำตาลอ่อนเมื่อผสมกับเกลือของโครเมียม (Chromium) สีม่วงแดงถ้าเมื่อผสมกับเกลือของเหล็ก สีแดงหรือชมพูเมื่อผสมกับเกลือของอะลูมินา (alumina) และสีส้มสดเมื่อผสมกับเกลือของดีบุก เป็นต้น สีที่ย้อมจากรากยอนี้จะเป็นสีที่คงทนซักฟอกสีก็ไม่ตก แต่ถ้าจะให้สีย้อมนั้นสดใสให้เติมกรดน้ำส้มลงไปในขณะที่ย้อม เพราะในสีนี้จะมี

สารพอกกลัยโคไซด์ (glycoside) ซึ่งถ้าใส่กรดแล้วสีที่ข้อมจะสลายตัวออกมาและสีที่สลายตัวออกมานี้เป็นสารประกอบเคมีจำพวกแอนทราควิโนน (วิทย์ เทียงบุญธรรม, 2536: 653-655)

### 2.3.5 จี้เหล็ก

ชื่ออื่นๆ : จี้เหล็กหลวง (ภาคเหนือ), จี้เหล็กบ้าน (ลาปาง), จี้เหล็กใหญ่ (ภาคกลาง), ยะหา (ปัตตานี), และจี้เหล็กจิหรี (ภาคใต้)

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ : *Cassia siamea* Britt.

ชื่อสามัญ : Siamese Cassia

ชื่อวงศ์ : LEGUMINOSAE (CAESALPINOIDEAE)



ภาพที่ 2.9 ลักษณะใบจี้เหล็ก

ลักษณะทั่วไป : เป็นไม้ยืนต้น ขนาดกลางถึงใหญ่ ใบประกอบแบบขนนกออกเรียงตรงข้ามกัน ใบย่อย ใบมนขนาดเล็ก ดอกช่อสีเหลือง ฝักแบนยาวเมื่อแก่จัดแตกออก ได้เกิดตามป่าเบญจพรรณทั่วไป ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540)

ส่วนที่พบสารแอนทราควิโนน : ใบ ลำต้นและกิ่ง เปลือกต้น แก่น

การใช้ประโยชน์ : ใบออกฤทธิ์เป็นยาระบายเพราะมีสารแอนทราควิโนนโดยใช้ใบจี้เหล็ก (ทั้งใบอ่อน และใบแก่) 4-5 กำมือ ต้ม เอน้ำดื่มก่อนอาหาร หรือเวลามีอาการท้องผูก (อาจารย์สมุนไพโร เว็บไซต์ของคนรักสุขภาพ, 2557)

### 2.3.6 ฅูน

ชื่่อื่นๆ : ราชพฤษ์, ชัยพฤษ์ ราชพริก ฅูน (ภาคกลาง), ฅูน (อีสาน), ชัยพฤษ์ ลัก  
เกย, ลักเกลือ (ใต้), ชัยพฤษ์ ฅูน ลมแล้ง (ภาคเหนือ)

ชื่่อสามัญ : Golden Shower, Indian Laburnum, Pudding-pipe Tree

ชื่่อวิทยาศาสตร์ : *Cassia fistula* L.

ชื่่อวงศ์ : CAESALPINIACEAE

ลักษณะ: ไม้ต้นผลัดใบ สูง 10-15 เมตร ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกปลายคู้ ใบย่อย  
3-8 คู่ รูปไข่แกมขอบขนาน กว้าง 4-8 ซม. ยาว 7-12 ซม. ดอก สีเหลืองสดออกตามซอกใบเป็นช่อ  
ห้อยลงยาว 20-40 ซม. ดอกย่อยจำนวนมาก ขนาดบานกว้าง ประมาณ 3 ซม. กลีบรองดอก 5 กลีบ  
ผิวด้านนอกมีขน กลีบดอก 5 กลีบ รูปไข่ เกสรผู้ 10 อัน สัน 7 อัน ยาว 3 อัน ก้านเกสรเมีย และรังไข่  
มีขนยาว ผล เป็นฝักยาว รูปแท่งกลม กว้าง 1.5-2 ซม. ยาว 20-60 ซม. ฝักแก่ไม่แตก แต่จะหลุดร่วง  
ทั้งฝัก และหักแตกเป็นชิ้น เมล็ด มีเนื้อเหนียวสีดำหุ้ม

ประโยชน์ : เนื้อหุ้มเมล็ดแก้ท้องผูก ขับเสมหะ ดอกแก้ไข้ เป็นยาระบาย ขับพยาธิ  
ไล่เดือน

ส่วนที่พบสารแอนทราวิโนน : ฝัก ฅูน .ใบ ราก เปลือก และแก่น



ภาพที่ 2.10 ลักษณะฝัก ฅูน

## 2.4 เทคนิคการสกัดสารจากวัตถุดิบ

### 2.4.1 หลักการสกัดสมุนไพร

คุณสมบัติของสารสำคัญพืชสมุนไพร

1) สารมีขี้ (ละลายน้ำ) ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต, กลัยโคไซด์, กรดอินทรีย์ เช่น กรดทาร์ทาริก ในมะขาม กรดซิตริก ในกระเจียบ, ฟีนอลิก เช่น ในสมอไทย สมอพิเภก มะขามป้อม และเกลือของแอลคาลอยด์

2) สารกึ่งมีขี้ (ละลายแอลกอฮอล์) ได้แก่ กลัยโคไซด์ เช่น แทนนิน ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์, อะกลัยโคน, แอลคาลอยด์, ฟีนอลิก, เทอร์ปีน, เรซิน, สียางชนิด เช่น สีแดงของพริกแดงโม สีเหลืองส้ม ของมะเขือเทศ มะละกอ แครอท ส้ม

3) สารไม่มีขี้ (ไม่ละลายน้ำ) เช่น น้ำมันหอมระเหย ไขมันเรซิน ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยพบในเหง้า เปลือก ใบ ดอก สังกะสีได้จากกลั่น, เรซิน มักพบในเหง้า อยู่ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยหรือเปลือก, ไขมัน มักพบในเมล็ด เช่น มะรุม งา

### 2.4.2 การเลือกใช้ตัวทำละลาย

จะได้ผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับ การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม

คุณสมบัติของตัวทำละลายที่ดี

- 1) เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่เราต้องการสกัดได้พอดี
- 2) ไม่ระเหยยากหรือง่ายเกินไป
- 3) ไม่ทำปฏิกิริยากับกับสารที่สกัด
- 4) ไม่เป็นพิษ
- 5) ราคาไม่แพง

### 2.4.3 หลักเกณฑ์เลือกตัวทำละลาย

- 1) สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขี้คล้ายคลึงกัน
- 2) ละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุด ในขณะที่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด

- 3) แรง (force) ที่เกี่ยวข้องในการละลาย (กิตติศักดิ์ แคล้วจันทร์สุข, ม.ป.ป)

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัด ได้แก่ น้ำ เบนซิน อีเทอร์ โทลูอิน และเฮกเซน สำหรับการสกัดน้ำมันพืชนิยมใช้เฮกเซน ในการสกัดน้ำมันพืชนั้น เมื่อใช้เฮกเซนสกัดน้ำมันออกจากพืชแล้วต้องนำสารละลายที่ได้ไปกลั่นเพื่อแยกเฮกเซนออกไปจากสารที่สกัดได้ ต่อจากนั้นจึงกำจัดสีและกลิ่นจนได้น้ำมันพืชบริสุทธิ์

การสกัดด้วยตัวทำละลาย อาจสกัดด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า ซอกซ์เลต เครื่องมือดังกล่าวนี้ใช้ตัวทำละลายปริมาณน้อย เพราะใช้วิธีการให้ตัวทำละลายหมุนเวียนผ่านสารที่ต้องการสกัดหลาย ๆ ครั้งต่อเนื่องกันไปจนกระทั่งสกัดสารออกมาได้เพียงพอ

### 1) ประโยชน์ของการสกัดด้วยตัวทำละลาย

1.1) ใช้สกัดน้ำมันพืชจากเมล็ดพืช เช่น น้ำมันงา ถั่ว ปาล์ม นุ่น บัว เป็นต้น นิยมใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย

1.2) สกัดสารที่มีสีออกจากพืช

1.3) ใช้สกัดน้ำหอมระเหยจากพืช

1.4) ใช้สกัดยาออกจากสมุนไพร

### 2) สารที่นิยมสกัดด้วยตัวทำละลาย

การสกัดสารออกจากพืชต่าง ๆ เช่น ใบเตย มะลิ ตะไคร้หอม เป็นต้น โดยปริมาณที่สกัดได้ขึ้นอยู่กับปริมาณพืชที่ใช้ ชนิดตัวทำละลายและปริมาณตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำสกัดสีจากขมิ้นได้ดีกว่าเอทานอล ถ้าใช้ตัวทำละลายที่ผสมน้ำและเอทานอลเข้าด้วยกัน สารที่สกัดจะมีทั้งสีและกลิ่นรวมอยู่ด้วยกัน สารที่สกัดได้จากขมิ้นนำไปใช้ประโยชน์ในการผสมเครื่องสำอางและอาหาร สารจากพืชส่วนใหญ่ใช้น้ำเป็นตัวสกัด แต่บางชนิดใช้น้ำเย็น บางชนิดใช้น้ำร้อน สารที่ใช้น้ำเย็นสกัด เช่น สกัดสีจากใบเตย กลิ่นหอมจากดอกมะลิ สกัดจากดอกอัญชัน สารที่ใช้น้ำร้อนสกัด เช่น สกัดสีจากดอกกระเจียว กลิ่นหอมจากตะไคร้หอม สกัดจากแก่นขนุน ใบหูกวาง สารบางชนิดสกัดโดยใช้เอทานอล เช่น ยาคองสมุนไพร ไวน์กระชายดำ

## 2.5 วิธีการสกัดสาร

### 2.5.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction)

การสกัดสมุนไพรนั้นสามารถทำได้หลายวิธี แต่ที่รู้จักกันโดยทั่วไปคือ การสกัดด้วยตัวทำละลายโดยเกณฑ์ที่ใช้ในการเลือกตัวทำละลายก็จะต้องดูว่าเราต้องการสารอะไรออกมาจากสมุนไพรนั้น มีขั้ว/ไม่มีขั้ว (polar/nonpolar) หากต้องการน้ำมันจัดเป็นสารที่ไม่มีขั้ว ก็ใช้ตัวทำละลายไม่มีขั้ว ถ้าต้องการสารที่มีความเป็นขั้วมากขึ้นก็ใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสูงขึ้นมา การสกัดสารที่อยู่ในพืชสมุนไพรนั้นจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) เช่น dichloromethane, ethyl acetate, methanol และ hexane ซึ่งชนิดที่ใช้จะขึ้นกับความมีขั้ว (polarity) และสมบัติการละลาย (solubility) ของสารที่เราต้องการสกัด ถ้าสารที่เราสนใจมีขั้วก็ใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสกัด หากเป็นสารที่ไม่มีขั้วก็ใช้ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว แต่โดยปกติการสกัดจะได้เป็นสารสกัดหยาบก่อน (crude extract) ซึ่งมีสารหลายร้อยชนิดปนกันออกมา ดังนั้นต้องมีขั้นตอนการแยกและทำให้บริสุทธิ์

(separation and purify) อีกที การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีหนึ่งที่มีประโยชน์มากในการแยกสาร และทำสารให้บริสุทธิ์ เช่น การสกัดแยกสารประกอบบางชนิดออกจากแหล่งที่เกิดในธรรมชาติ เช่น ใบไม้ ดอกไม้ การสกัดแยกสารผลิตภัณฑ์ออกจากของผสมหลังทำปฏิกิริยา หลักการของการสกัดคือ การใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสม การสกัดพอจะแบ่งได้คร่าวๆ เป็น 3 วิธีดังนี้

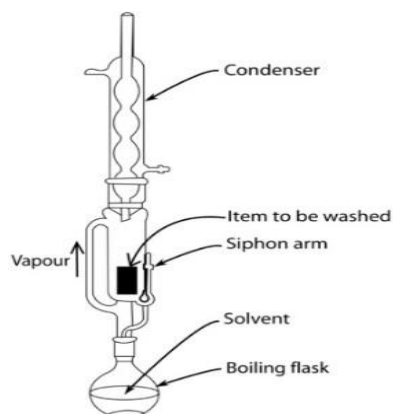
1. Solid/Liquid Extraction เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารซึ่งเป็นของแข็ง การสกัดแบบนี้มีหลักการไม่แตกต่างจากการหาตัวทำละลายเพื่อตกผลึกสาร

2. Liquid/Liquid Extraction เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของเหลว

3. Acid/Base Extraction เป็นการใช้ปฏิกิริยากรด - เบสเพื่อแยกสารอินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นกรดแก่ กรดอ่อน กลาง และเบสออกจากกัน

### 2.5.2 Soxhlet extraction

วิธี Soxhlet extraction เป็นวิธีการสกัดสารแล้วถูกทำให้ระเหยและควบแน่นกลับมาเมื่อเจอรระบบหล่อเย็น ทำให้สกัดได้อีกเป็นลักษณะหมุนเวียนโดยตัวทำละลายที่เราใส่ลงไป เครื่องมือจะหมุนเวียนผ่านสารที่เราต้องการสกัดหลายๆครั้ง เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดจนกระทั่งสารที่เราต้องการสกัดออกมามีปริมาณเข้มข้นมากพอ ชนิดของตัวทำละลายต้องเหมาะสมกับการสกัดสารที่สนใจ โดยอาศัยหลักการ Like dissolve like ปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้สกัดต้องมีมากพอ คือเมื่อตัวทำละลายส่วนหนึ่งเกิดการระเหยขึ้นไปสกัดสารก่อนที่จะเต็ม Reflux side arm แล้วจากนั้นจะเป็นแบบลักษณะของกาลักน้ำต่อไปสู่ส่วนของ Flask ก็จะต้องมีตัวทำละลายเหลืออยู่เพื่อทำให้การสกัดเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา ซึ่งตัวทำละลายที่มากเกินไปสามารถระเหยออกได้เมื่อสกัดสารที่สนใจได้ตามที่ต้องการ ด้วยเครื่อง Rotary evaporator เวลาที่ใช้สกัดต้องมีความเหมาะสมที่จะสามารถสกัดเอาสารที่สนใจออกจากตัวอย่างให้ได้มากที่สุด ซึ่งในเทคนิคนี้ส่วนใหญ่เวลาที่ใช้สกัดมักยาวนานเป็นชั่วโมง เพื่อให้เกิดการ reflux ของตัวทำละลายหลายๆ ชั่วโมง ทำให้สารที่สนใจถูกสกัดออกจากตัวอย่างได้มากที่สุดตัวอย่างเทคนิคนี้มักจะเป็นของแข็ง ดังนั้นต้องทำตัวอย่างให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสกับสารมากที่สุด คือพยายามสับ หรือ หั่น ให้ตัวอย่างมีขนาดเล็กที่สุดเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัส



ภาพที่ 2.11 การสกัดโดยใช้ Soxhlet Extractor

ที่มา : ดวงกมล เรือนงาม, 2557

## 2.6 เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer)

### 2.6.1 หลักการของเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

UV-Visible Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงและค่า intensity ในช่วงรังสียูวีและช่วงแสงขาวที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืน โดยตัวอย่างที่วางอยู่ในเครื่องมือ โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อนและสารอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้



ภาพที่ 2.7 เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer)

คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของสารเมื่อโมเลกุลของตัวอย่างถูกฉายด้วยแสงที่มีพลังงานเหมาะสมจะทำให้อิเล็กตรอนภายในอะตอมเกิดการดูดกลืนแสงแล้วเปลี่ยนสถานะไปอยู่ในชั้นที่มีระดับพลังงานสูงกว่าเมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่ความยาวคลื่นค่าต่างๆตามกฎของ Beer-Lambert ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิคนี้ในการระบุชนิดและปริมาณของสารต่างๆที่มีอยู่ในตัวอย่างได้

## 2.6.2 ส่วนประกอบของเครื่อง UV - Visible Spectrophotometer

### 2.6.2.1 แหล่งกำเนิดแสง

แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอด้วยหลอดกำเนิดแสงมีหลายชนิดตามความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมา ซึ่งต้องเลือกใช้ให้ถูกต้องเหมาะสมกับของเหลวที่นำมาวัดค่าดูดกลืนแสง

ตัวอย่างแหล่งกำเนิดแสง ช่วง UV ใช้หลอด  $H_2$  and  $D_2$  lamp ให้ความยาวคลื่นอยู่ในย่าน 160 - 380 nm ชนิดของสเปกโตรสโกปี UV molecular absorption และช่วง visible ใช้หลอด Tungsten/halogen ให้ความยาวคลื่นในช่วง 240 - 2,500 nm ชนิดของสเปกโตรสโกปี เป็นแบบ UV/visible/near-IR molecular absorption

### 2.6.2.2 Monochromator

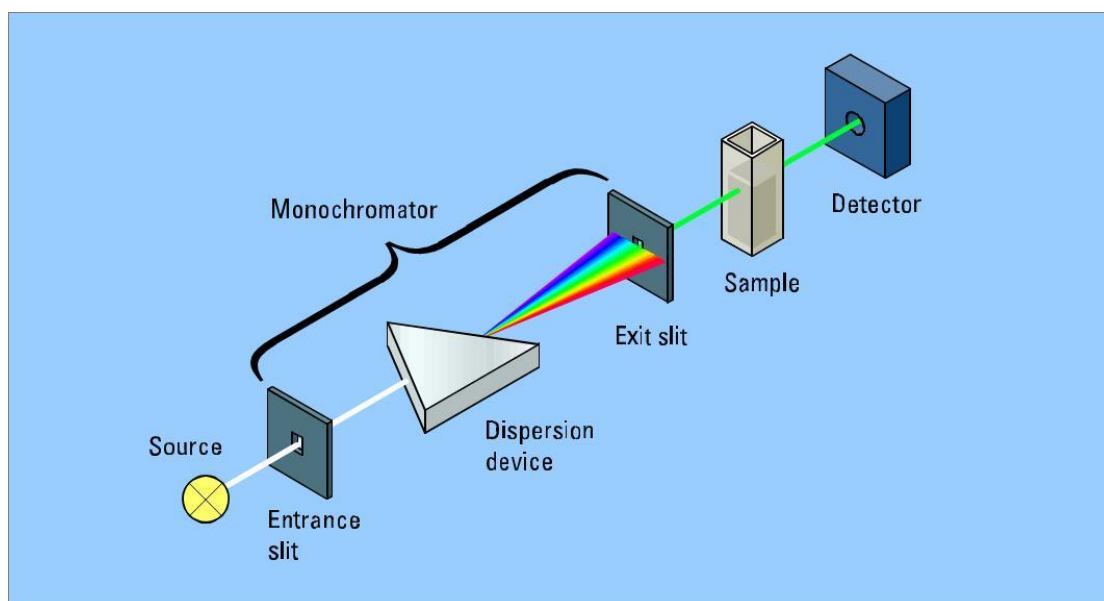
ส่วนประกอบนี้เป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงโดยจะทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสง ซึ่งเป็นพอลิโครเมติก ให้เป็นแสงโมโนโครเมติก ซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ หรือมีความยาวคลื่นเดียว ใช้ฟิลเตอร์ (กระจกสี) ปริซึม (prism) หรือ เกรตติง (grating)

### 2.6.2.3 เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายตัวอย่าง

เซลล์ที่ใส่สารตัวอย่าง (cell sample) บางครั้งอาจเรียกว่า คิวเวท (cuvettes) รูปแบบที่ใช้กันทั่วไปได้แก่ เซลล์ที่ทำด้วยแก้วธรรมดา จะใช้ได้เฉพาะช่วงวิสิเบิล เพราะเนื้อแก้วธรรมดาถูกดูดกลืนแสงในช่วงยูวีได้ และเซลล์ที่ทำด้วยซิลิกา และควอตซ์ (quartz) ใช้ได้ทั้งช่วงยูวีและวิสิเบิล

### 2.6.2.4 Detector

หน้าที่ในการวัดความเข้มของรังสีที่ถูกดูดกลืนโดยการแปลงพลังงานคลื่นรังสีเป็นพลังงานไฟฟ้า เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือ แม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อย ก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ เครื่องวัดแสงที่ยังนิยมกันอยู่ในปัจจุบัน คือ หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube, PMT) และเครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด (silicon diode detector)



ภาพที่ 2.12 องค์ประกอบของเครื่อง UV - Visible spectrophotometer

ที่มา : จินดาพร บุญวัฒนา, 2558

### 2.6.3 ข้อกำหนดของเครื่อง UV - Visible spectrophotometer

- แสงที่ใช้ต้องเป็นแสงเอกภพรังสี (Monochromatic radiation)
- ช่อง slit ต้องแคบจึงจะทำให้การวัดที่มีประสิทธิภาพ
- ต้องไม่มีแสงหลงมาจากแหล่งอื่น (stray light)
- กระบวนการดูดกลืนแสงต้องไม่ขึ้นแก่กัน นั่นคือ สารละลายต้องเจือจาง
- สารละลายที่นำไปวัดต้องเป็นเนื้อเดียวกัน
- สารละลายต้องไม่ขุ่น ไม่เป็นตะกอน ไม่เป็นคอลลอยด์

## 2.6.4 การทำปริมาณวิเคราะห์

วิธีหาปริมาณสาร โดยการทำให้ calibration curve มีหลายวิธี เช่น

### 2.6.4.1 วิธีสารมาตรฐานภายนอก (External standard method)

- 1) เตรียมสารมาตรฐานหลายๆ ความเข้มข้น วัดค่า Abs และสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration graph)
- 2) วิเคราะห์สารตัวอย่างแบบเดียวกันกับสารละลายมาตรฐาน และนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไปเทียบกับ calibration graph เพื่อหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างโดยตรง
- 3) คำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริง

### 2.6.4.2 วิธีเติมสารมาตรฐาน (standard addition method)

- 1) เติมสารมาตรฐานที่มีปริมาณต่างๆ กัน ลงไปในสารตัวอย่าง
- 2) วัดค่า Abs และสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration graph)
- 3) จากกราฟมาตรฐาน หาจุดตัดแกน x คือปริมาณสารตัวอย่าง
- 4) คำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริง

## 2.6.5 การประยุกต์ใช้งาน

2.6.5.1 การวัดการดูดกลืนและการทะลุผ่านของคลื่นแสง เช่น ขึ้นตัวอย่างกระจกแก้ว แว่นตากันแดด คอนแทกเลนส์ กระจกเคลือบด้วยฟิล์มบาง หมึกพิมพ์ เครื่องสำอาง ตัวอย่างทาง ด้านชีวภาพ เป็นต้น

2.6.5.2 การหาค่าการสะท้อนของแสงในชั้นตัวอย่างฟิล์ม และการเคลือบบนพื้นผิว พงโลหะ พงออกไซด์ของโลหะ พงสี พลาสติก และเซรามิก เป็นต้น (แม้น อมรสิทธิ์, 2539)

## 2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดสาร

### 2.7.1 ตัวทำละลาย

ตัวทำละลาย (solvent) เป็นของเหลวที่สามารถละลายตัวถูกละลายที่เป็นของแข็งของเหลว หรือก๊าซ ได้เป็นสารละลาย ตัวทำละลายที่คุ้นเคยมากที่สุดและใช้ในชีวิตประจำวัน คือน้ำ สำหรับคำจำกัดความที่อ้างถึง ตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) จะหมายถึงตัวทำละลายอีกชนิดที่เป็นสารประกอบอินทรีย์ (organic compound) และมีคาร์บอนอะตอมอยู่ด้วย โดยปกติตัวทำละลายจะมีจุดเดือดต่ำและระเหยง่าย หรือสามารถกำจัดโดยการกลั่นโดยทั่วไปแล้วตัวทำละลายไม่ควรทำปฏิกิริยากับตัวถูกละลาย คือ มันจะต้องมีคุณสมบัติเฉื่อยทางเคมี ตัวทำละลายสามารถใช้

สกัด (extract) สารประกอบที่ละลายอยู่ในของผสมได้ตัวอย่าง ได้แก่ การต้มกาแฟหรือชาด้วยน้ำร้อน ปกติตัวทำละลายจะเป็นของเหลวใสไม่มีสีและส่วนใหญ่จะมีกลิ่นเฉพาะตัว

ความเข้มข้นของสารละลาย คือ จำนวนสารประกอบที่ละลายในตัวทำละลายในปริมาตรที่กำหนด

การละลาย (solubility) คือจำนวนสูงสุดของสารประกอบที่ละลายได้ในตัวทำละลาย ตามปริมาตรที่กำหนดที่อุณหภูมิเฉพาะ

การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรม เช่น การสกัดน้ำมันพืชเพื่อใช้ประกอบอาหาร โดยนำวัตถุดิบมาจากเมล็ดของพืชชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เมล็ดทานตะวัน ถั่วเหลือง ปาล์ม ถั่วลิสง ข้าวโพด เมล็ดบัว งา และรำข้าว ในการสกัดน้ำมันพืชนิยมใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย หลังการสกัดจะได้สารละลายที่มีน้ำมันพืชละลายอยู่ในเฮกเซน จากนั้นนำไปกรองเอากากเมล็ดพืชออก แล้วนำสารละลายไปกลั่นแยกลำดับส่วนเพื่อแยกเฮกเซนได้น้ำมันพืช ซึ่งต้องนำไปฟอกสี ดูดกลิ่น และกำจัดสารอื่น ๆ ออกก่อน จึงได้น้ำมันพืชสำหรับใช้ปรุงอาหาร ทั้งนี้การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นวิธีการแยกสารที่ใช้มากในชีวิตประจำวัน เป็นการแยกสารที่ต้องการออกจากส่วนต่าง ๆ ของพืชหรือจากของผสมต้องเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารที่ต้องการ

การเลือกตัวทำละลายที่นำมาใช้ในการสกัดมีหลักทั่วไป ดังนี้

- ต้องละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี
- ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด
- ถ้าต้องการแยกตัวทำละลายจะต้องไม่มีสี ถ้าต้องการแยกกลิ่นตัวทำละลายต้องไม่มีกลิ่น

ไม่มีกลิ่น

- ไม่มีพิษ มีจุดเดือดต่ำ และแยกตัวออกจากสารที่ต้องการสกัดได้ง่าย
- ไม่ละลายปนเป็นเนื้อเดียวกับสารที่นำมาสกัด
- มีราคาถูก

## 2.7.2 ค่า pH

pH ย่อมาจากคำว่า positive potential of the hydrogen ions คือ ค่าที่แสดงถึงความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน ( $H^+$ ) หรือไฮโดรเนียมไอออน ( $H_3O^+$ ) ใช้ออกความเป็นกรดหรือเบสของสารละลาย โดยค่า pH ของสารละลายเป็นค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน

### 2.7.3 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทำให้ความเร็วของการเคลื่อนไหวนของโมเลกุลเร็วขึ้น การแทรกซึม การแพร่กระจายความเร็วในการละลายจะเร่งตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น ดังนั้นการสกัดด้วยอุณหภูมิที่สูงกว่าอัตราการสกัดอุณหภูมิที่เย็นจะได้ผลการสกัดที่ดีกว่า นอกจากนี้อุณหภูมิสามารถเพิ่มได้ไม่จำกัด ดังนั้นอุณหภูมิที่สูงเกินไปจะทำให้บางส่วนของพืชตัวอย่างได้รับความเสียหายของการสลายตัวออกซิเดชัน โดยทั่วไปความร้อนประมาณ 60 องศาเซลเซียส มีความเหมาะสมสูงสุดไม่ควรเกิน 100 องศาเซลเซียส

### 2.7.4 เวลา

ก่อนที่ความเข้มข้นของสารสกัดทั้งภายในและภายนอกเซลล์พืชตัวอย่างถึงระดับสมดุล ปริมาณสารในการสกัดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการสกัดนานขึ้น เวลาในการสกัดไม่จำเป็นต้องยืดออกไปเรื่อย ๆ เพราะพืชแต่ละตัวอย่างมีโครงสร้างของผนังเซลล์ที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปการสกัดด้วย ความร้อน 1 ชั่วโมงมีความเหมาะสม

## 2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง มีการศึกษาสารเมธิลแอนทรานิเลทจำนวนไม่มากนัก ซึ่งสารเมธิลแอนทรานิเลทเป็นสารที่มีกลิ่น มักนำมาเป็นน้ำหอมและสารแต่งกลิ่นอาหาร อยู่ในกลุ่มเอสเทอร์ และกลิ่นของเมธิลแอนทรานิเลทสามารถไล่แมลงได้อีกด้วย โดยมีการวิจัยดังต่อไปนี้

**Avery. M. L. (1992)** ศึกษาเมธิลแอนทรานิเลทเป็นสารเติมแต่งอาหารกลิ่นอ่อนที่เป็นสารขับไล่แมลง การศึกษาก่อนหน้านี้ได้ชี้ให้เห็นว่าสามารถขับแมลง *frugivorous* ในการศึกษาที่ผลทดสอบการไล่แมลง 2 สายพันธุ์ ในพืชบลูเบอร์รี่ในไร่ขนาดใหญ่ เมธิลแอนทรานิเลทมีการป้องกันบลูเบอร์รี่จากความเสียหายโดย นก Cedar waxwings (*Bombycilla cedrorum*) หรือนก European starlings (*Sturnus vulgaris*) แต่เป็น *nonphytotoxic* เนื่องจากความต้องการหาสารขับแมลงที่ปลอดภัยใช้สารเมธิลแอนทรานิเลทเป็นสารขับไล่แมลง และยังสามารถบูรณาการการใช้เมธิลแอนทรานิเลท ในการขับแมลงสายพันธุ์อื่นๆ เพื่อลดความน่าดึงดูดของผลไม้จากนก

**Primus. T. M., et al (1995)** ศึกษาการสกัดเมธิลแอนทรานิเลทจากผลิตภัณฑ์และวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยใช้การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 220, 248 และ 336 นาโนเมตร ข้อมูล % recovery มีความแน่นอนโดยการวิเคราะห์จากสารสกัดเมธิลแอนทรานิเลทและเมล็ดข้าวในไมโครแคปซูลมีค่าเฉลี่ย  $97.3 \pm 2.4\%$  ซึ่งอยู่ในช่วง 7 ถึง 28% เมธิลแอนทรานิเลท และ  $96.1 \pm 6.1\%$  เมธิลแอนทรานิเลท ในช่วงของ 0.020 ถึง 1.00% เมธิลแอนทรานิเลทในเมล็ดข้าว

**Yadav. G. D. and Krishnan. M. S. (1998)** ศึกษาเมทิลแอนทรานิลเลทจัดเป็นน้ำหอมอยู่ในกลุ่มเอสเทอร์ และยังใช้เป็นสารตั้งต้นพื้นฐานในการผลิตน้ำหอม ในการสังเคราะห์เมทิลแอนทรานิลเลทจะใช้ปฏิกิริยา anhydride และ Methanol หรือใช้ปฏิกิริยา esterification ของ anthranilic acid ด้วย methanol ปัญหากระบวนการในการกำจัดของเหลวที่เป็นกรดในปฏิกิริยาและปริมาณของกรดที่เกิดขึ้นจะมีสารในกลุ่ม amine จะถูกกีดขวางเป็น amine hydrochloride ง่ายวิธีนี้จึงประยุกต์ตัวเร่งที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมประกอบด้วย ZSM-5; acid-treated clays เช่น Filtrol-24 และ K10 ; ion-exchange resins เช่น Nafion-H, Indion-130, Amberlyst-15, Amberlyst-18, Dowex M-32 และ Bayer K-24; และ dodecatungstophosphoric acid, heteropolyacid และจำนวน catalysts ที่ศึกษาพบว่า Amberlyst-15 และ Indion-130 มีประสิทธิภาพดีที่สุด ส่วน catalysts ตัวอื่น เช่น ZSM-5, Filtrol-24, และ dodecatungstophosphoric acid ถูกพบว่ามีประสิทธิภาพต่ำ

**Nozal. M. J., et al. (2001)** ศึกษาสารประกอบ methyl anthranilate โดยใช้วิธี high performance liquid chromatographic (HPLC) ที่มีประสิทธิภาพสูงใช้ในการวิเคราะห์สาร 5 - hydroxymethyl-2 - furaldehyde (hydroxymethylfurfural), 2 - furaldehyde (furfural), furan-2 - carboxylic acid (2 - furoic acid), furan-3 - carboxylic acid (3 - furoic acid), furan-3 - carboxaldehyde (3-furaldehyde) และ 2-aminobenzoic acid methyl ester (methyl anthranilate) ในตัวอย่างน้ำผึ้งและน้ำหวาน เพื่อป้องกันการรบกวนและเมทริกซ์ในการแยกสารที่มีขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์โดยใช้วิธี Solid phase extraction โดยใช้ตัวทำละลาย 0.5 ml เมทานอลชะสารที่ถูกแยกได้จะนำมาแยกด้วยระบบ reversed-phase column โดยใช้ตัวทำละลาย (A) 1% aqueous acetic acid-acetonitrile (97:3, v/v) และ (B) acetonitrile-water (50:50, v/v) ใช้ UV ที่ 250 nm เทคนิคนี้สามารถนำไปประยุกต์การวิเคราะห์ตัวอย่างจากแหล่งกำเนิดพฤกษศาสตร์ที่แตกต่างกัน

**Sawai. Y., et al (2004)** ศึกษาสารหอมระเหยที่ได้จากชาญี่ปุ่นชนิดใหม่ (Camellia sinensis) ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยให้ผ่อนคลาย สารหอมระเหยถูกสกัดด้วยการกลั่นแบบต่อเนื่องและวิเคราะห์โดยวิธี gas chromatography ซึ่งปรากฏพบกักขังบ่งบอกถึงการมีสารเมทิลแอนทรานิลเลท 'Sofu' เป็นพันธุ์ผสมกับ Yabukita (var. sinensis) และ Shizu-Inzatsu131 ซึ่งได้จากการผสมระหว่าง var. assamica และ var. Sinensis เกสรตัวเมียของ 'Sofu' ยังปรากฏสารเมทิลแอนทรานิลเลท นอกจากนี้ Fujikaori ที่ได้จากการผสม Shizu-Inzatsu131 กับเกสรตัวเมีย Yabukita ก็มีเมทิลแอนทรานิลเลทปรากฏเหมือนกัน

**Sesta. G., et al. (2008)** มีการอธิบายวิธีการหาเมทิลแอนทรานิลเลท ในน้ำผึ้ง และศึกษาตัวอย่างของ Citrus honey จำนวน 46 ตัวอย่าง ที่ปลูกแตกต่างกันในแต่ละประเทศ ปริมาณเมทิล-

แอนทรานิเลท ที่วัดได้และการตรวจสอบความสอดคล้องของตัวอย่างที่มีรายละเอียดของ unifloral Citrus honey ได้รับการยืนยันตามตัวแปรความถูกต้องแบบดั้งเดิม ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าค่าเมธิลแอนทรานิเลทไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ หรือปริมาณเมธิลแอนทรานิเลทไม่สัมพันธ์กับชนิดของ Citrus honey ไม่สามารถนำไปใช้เป็นตัวแปรจำแนก Citrus honey ได้ในกลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณเมธิลแอนทรานิเลทต่ำที่สุด คือ Citrus honey ที่ผลิตในอิตาลีมากกว่าในประเทศอื่น ๆ ซึ่งค่าที่ได้ต่ำกว่าขีดจำกัดการวัดคือ 2 mg/kg

มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับการใช้เทคนิคในการสกัดและหาปริมาณสารแอนทรากิโนนในพืชได้มีงานวิจัยที่ศึกษาดังต่อไปนี้

**บุญชัย พงษ์ราวรธณ และคณะ (2549)** ประสิทธิภาพของการสกัดด้วยน้ำร้อนแรงดันสูงของแอนทรากิโนนจาก *Morinda citrifolia* สามารถสกัดสารเพื่อขจัดอนุมูลอิสระ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl ในหลอดทดลองเมื่อเทียบกับสารสกัดที่ได้ โดยใช้วิธีสกัดแบบอื่น ๆ เช่น การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลด้วย Soxhlet และการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ พบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนแรงดันสูง และการสกัดด้วย Soxhlet ทำให้สารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด นอกจากนี้การสกัดด้วยน้ำร้อนแรงดันสูง สามารถได้แอนทรากิโนนในปริมาณที่เท่ากันเมื่อเทียบกับการสกัดโดย Soxhlet นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์การละลายของแอนทรากิโนนในน้ำร้อนแรงดันสูงและสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

**วงศ์วัฒน์ เตมีบุตร และคณะ (2550)** ได้ทำการพัฒนาวิธีสกัดแอนทรากิโนนด้วยชุด soxhlet โดยปรับปรุงจากวิธีของ Kritsanapan & Nualkaew (2003) รวมทั้งสิ้น 4 วิธีการ เริ่มจากการปรับเปลี่ยนชนิดและปริมาณสารเคมี รวมถึงเวลาที่ใช้ในการสกัดให้เหมาะสมกับการสกัดผงรากต้นข่อย วิธีแรกใช้การสกัดด้วยน้ำคลอโรฟอร์ม ไอออน (III) คลอไรด์ กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นและไดเอทิลอีเทอร์ กระทั่งได้แอนทรากิโนนในไดเอทิลอีเทอร์ จึงนำมาระเหยจนแห้ง แล้วละลายของแข็งด้วย 0.5% (%w/v) แมกนีเซียมอะซิเตตในเมทานอล จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 325.4 nm พบว่าสามารถสกัดแอนทรากิโนนกลัยโคไซด์และปริมาณแอนทรากิโนนทั้งหมดได้  $0.368 \pm 0.048$  และ  $0.580 \pm 0.076$  mg/g รากต้นข่อยบดแห้ง ตามลำดับ รวมระยะเวลาในการสกัด 7 ชั่วโมง ส่วนวิธีที่สอง ตัดขั้นตอนการสกัดแอนทรากิโนนกลัยโคไซด์ด้วยคลอโรฟอร์มในวิธีแรกออกไป ลดปริมาณและขั้นตอนการสกัดด้วยน้ำ รวมถึงลดความเข้มข้นแต่เพิ่มปริมาตรของไอออน (III) คลอไรด์ที่ใช้ และลดความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ พบว่าสามารถสกัดแอนทรากิโนนทั้งหมดได้  $1.63 \pm 0.07$  mg/g รากต้นข่อยบดแห้ง รวมระยะเวลาสกัด 4 ชั่วโมง ในวิธีที่สามใช้แค่เพียง 50 % (%v/v) เอทานอล เป็นตัวทำละลายเพียงชนิดเดียวในการสกัด

พบว่าสามารถสกัดแอนทราควิโนนทั้งหมดได้  $11.2 \pm 2.8$  mg/g รากต้นขอบดแห้ง ส่วนวิธีที่สี่เพียงแค่เปลี่ยนเอทานอลในวิธีที่สามเป็นเมทานอล ทั้งนี้พบว่าสามารถสกัดแอนทราควิโนนได้  $14.6 \pm 1.0$  mg/g รากต้นขอบดแห้ง สองวิธีหลังนี้ใช้เวลาสกัดทั้งสิ้น 1 ชั่วโมง โดยพบว่าของเหลวที่สกัดได้ในวิธีที่สามและสี่มีความขุ่นมากกว่าของเหลวสีส้มที่สกัดได้ในวิธีที่หนึ่งและสอง ในแง่ของค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการสกัดต่อ (mg) แอนทราควิโนนที่สกัดได้ พบว่าต้องใช้เงิน  $193 \pm 25$  บาท สำหรับวิธีที่หนึ่ง  $49.9 \pm 2.1$  บาท สำหรับการสกัดแบบรวบขึ้นในวิธีที่สอง  $4.98 \pm 1.25$  บาท สำหรับวิธีสกัดที่ใช้เอทานอล  $3.97 \pm 0.17$  บาท สำหรับวิธีสกัดที่ใช้เมทานอล

**เกศินี ยะจอม และคณะ (2550)** ทำการสกัดแอนทราควิโนนจากผงรากต้นขอดด้วยสามวิธีการ วิธีที่ 1 นำตัวทำละลาย 4 ชนิดได้แก่ เมทานอล เอทานอล อะซีโตน และเอทิลอะซิเตต มาผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 0, 5, 20, 35, 50, 65, 80, 95 และ 100% (%v/v) แล้วทำการสกัด วิธีที่ 2 เป็นการสกัดในถังอัดความดัน 1 บาร์ อุณหภูมิ  $100^\circ\text{C}$  และวิธีที่ 3 ทำการสกัดในเครื่องสกัดสารผสมของแข็งด้วยของเหลวแบบวงจรปิดที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นทางเศรษฐศาสตร์เพื่อคัดเลือกวิธีการสกัดที่ดีที่สุด แม้ว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย 80% (%v/v) อะซีโตน ณ อุณหภูมิห้อง จะวัดความเข้มข้นแอนทราควิโนนสูงสุดได้ถึง  $0.0648 \pm 0.0027$  mg/ml แต่เพราะต้นทุนการสกัดที่สูง ( $2.94 \pm 0.12$  บาท/mg) แอนทราควิโนน จึงเลือกใช้เอทานอลที่มีต้นทุนต่ำกว่า ( $1.42 \pm 0.36$  บาท/mg) แอนทราควิโนน แทนโดย 50% (%v/v) เอทานอลสกัดแอนทราควิโนนได้ ( $0.0450 \pm 0.0115$  mg/ml) เมื่อตรวจสอบการใช้เอทานอลระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นตัวทำละลาย สำหรับการสกัดในถังอัดความดัน พบว่า 80% (%v/v) เอทานอล สกัดแอนทราควิโนนได้มากที่สุดถึง ( $0.1589 \pm 0.0010$  mg/ml) หรือ ( $95.3 \pm 0.6$  mg/g) รากต้นขอบดแห้ง โดยมีต้นทุนการสกัดอยู่ที่ ( $4.28 \pm 0.03$  บาท/mg) แอนทราควิโนน ส่วนวิธีที่ 3 แม้ว่าจะต้นทุนในการสกัดจะต่ำ ( $1.50 \pm 0.08$  บาท/mg) แอนทราควิโนน แต่ก็มีประสิทธิภาพในการสกัดที่ต่ำกว่าวิธีอื่นด้วย ( $0.00379 \pm 0.00019$  mg/ml)

เมื่อนำวิธีสกัดภายใต้ถังความดันไปใช้กับตัวอย่างผงราก ลำต้น เปลือกและใบที่เตรียมโดยสุธิกานต์และคณะ (2550) แล้ววิเคราะห์ปริมาณสารอะลิซารินและแอนทราควิโนนด้วย HPLC พบระดับอะลิซารินสูงสุด ( $7.50 \pm 0.30$  mg/g) ในเปลือกต้นขอ ขณะที่ในรากและลำต้นพบอะลิซารินที่ระดับ ( $3.30 \pm 3.30$ ) และ ( $2.70 \pm 0.30$  mg/g) ตามลำดับ แต่ไม่พบอะลิซารินในใบของต้นขอ ส่วนรากต้นขอมีปริมาณแอนทราควิโนนสูงสุดเท่ากับ ( $103.2 \pm 4.8$  mg/g) ตามด้วยลำต้น ( $45.3 \pm 6.3$  mg/g) เปลือก ( $6.90 \pm 0.3$  mg/g) และใบ ( $1.20 \pm 0.6$  mg/g)

**วงศ์วัฒน์ เตมียบุตรและคณะ (2551)** ได้ทำการเปรียบเทียบปริมาณสารแอนทราควิโนนในผงราก ลำต้น เปลือกและใบ ของต้นขย พบว่าส่วนรากมีปริมาณแอนทราควิโนนสูงที่สุดเท่ากับ  $(103.2 \pm 4.8$  มก./ก.) มวลแห้ง ตามด้วยลำต้น  $(45.3 \pm 6.3$  มก./ก.) เปลือก  $(6.90 \pm 0.3$  มก./ก.) และใบ  $(1.20 \pm 0.6$  มก./ก.) จากนั้นนำเทคนิคการสกัดสีวิธีการมาใช้สกัดแอนทราควิโนนจากรากต้นขย ดังต่อไปนี้ วิธีแรกใช้ชุด Soxhlet ด้วย 50 เปอร์เซ็นต์ (%v/v) เมทานอล จะสกัดแอนทราควิโนนได้  $(14.6 \pm 1.0$  มก./ก.) รากต้นขยอบแห้ง คิดเป็นค่าใช้จ่าย  $(3.97 \pm 0.17$  บาท/กก.) แอนทราควิโนน ส่วนวิธีที่สองทำการสกัด ณ อุณหภูมิห้อง ด้วยตัวทำละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ (%v/v) อะซิโตน และ 50 เปอร์เซ็นต์ (%v/v) เอทานอล จะได้แอนทราควิโนนความเข้มข้นสูงสุด  $(38.9 \pm 1.6$  และ  $27.0 \pm 6.9$  มก./ก.) คิดเป็นค่าใช้จ่าย  $(2.94 \pm 0.12$  และ  $(1.42 \pm 0.36$  บาท/กก.) ตามลำดับ การสกัดด้วยวิธีที่สามในถึงอัดความดัน 1 บาร์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ด้วย 80 เปอร์เซ็นต์ (%v/v) เอทานอล จะสกัดแอนทราควิโนนได้มากที่สุดถึง  $(95.3 \pm 0.6$  มก./ก.) โดยมีต้นทุนการสกัดอยู่ที่  $(4.28 \pm 0.03$  บาท/กก.) ส่วนวิธีการสกัดสุดท้ายในเครื่องสกัดสารผสมของแข็งด้วยของเหลวแบบวงจรปิดที่อุณหภูมิห้อง มีต้นทุนในการสกัดเพียง  $(1.50 \pm 0.08$  บาท/กก.) แต่สกัดได้เพียง  $(2.27 \pm 0.11$  มก./ก.)

**อรภา สกฤตพาณิชย์และวันดี กฤษณะพันธ์ (2551)** ฝักคูนสุก *Cassia fistula* Linn. ถูกใช้เป็นยาแผนโบราณ มีฤทธิ์เป็นยาระบาย ประกอบด้วยสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ ซึ่งมี rhein และ aloe-emodin เป็นสารประกอบหลัก ฝักคูนสุกถูกสกัดด้วย 70% Ethanol โดยวิธีการหมัก การหมักแบบต่อเนื่อง การสกัดด้วยซอห้กเลท และการต้มด้วยน้ำ ปริมาณสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ทั้งหมด และสารแอนทราควิโนนทั้งหมด วิเคราะห์สารสกัดด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer และคำนวณอยู่ในรูปของ rhein และ aloe-emodin สารสกัดที่ถูกเตรียมโดยการต้มมีปริมาณสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์สูงสุด มีฤทธิ์เป็นยา พบอยู่ในช่วง  $0.2383 \pm 0.0011$  และ  $0.2194 \pm 0.0077$  (%w/w) คำนวณ rhein และ aloe-emodin ตามลำดับ สำหรับการหมักจะได้สารแอนทราควิโนนทั้งหมดสูงสุด เท่ากับ  $0.3139 \pm 0.0129$  (%w/w) ของ rhein และ  $0.2194 \pm 0.0088$  (%w/w) ของ aloe - emodin เปรียบเทียบวิธีการสกัดทั้งหมดพบว่า การต้มเป็นวิธีที่ง่ายสะดวก ต้นทุนต่ำในแง่ของตัวทำละลายและเครื่องมือที่สกัด และเป็นวิธีการสกัดที่เหมาะสมสำหรับฝักคูนที่ใช้เป็นยาระบายอื่นๆ

**ทวิศ คุณยศยิ่ง และนพพล เล็กสวัสดิ์ (2552)** ได้ทำการศึกษาภษณะสามชนิด และแนวทางจำกัดการระเหยของสารละลายเอทานอลเข้มข้น 80% (v/v) จำนวน 6 วิธีการ สำหรับการสกัดสารแอนทราควิโนนจากผงรากต้นขยแห้งในถึงอัดความดันไอน้ำ ณ ความดัน 20 ปอนด์ต่อ

ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ภาชนะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดคือขวดแอมขนาด 231 มิลลิลิตร (เส้นผ่าศูนย์กลาง × ความสูง เท่ากับ  $5.4 \times 10.1$  เซนติเมตร) ที่มีฝาโลหะเกลียวปิดอย่างแน่นหนา ทั้งนี้พบว่าหลังการอัดความดันไอน้ำอิมตัวในสถานะที่กำหนดยังคงมีปริมาตรของตัวทำละลายเหลืออยู่  $65.0 \pm 5.6\%$  ของสถานะเริ่มต้น ระดับความดันและเวลาในการสกัดสารแอนทราควิโนนที่เหมาะสมที่สุด ในการสกัดสารแอนทราควิโนนภายใต้ความดันซึ่งมีการใช้ขวดแอมขนาด 231 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารละลายเอทานอลเข้มข้น 80% (v/v) อยู่ที่ระดับ 5 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 5 นาที ทำให้สกัดสารแอนทราควิโนนได้  $30.9 \pm 0.5$  มิลลิกรัมต่อกรัม ผงรากต้นยอแห้ง และมีค่าใช้จ่ายในการสกัดอยู่ที่  $2.65 \pm 0.04$  บาทต่อมิลลิกรัม การทดลองเพื่อศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นสารละลายเอทานอลที่มีต่อความเข้มข้นสารแอนทราควิโนนที่สกัดได้ พบว่าสารละลายเอทานอลเข้มข้น 65% (v/v) เป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัด ทำให้ได้ระดับแอนทราควิโนนสูงถึง  $38.4 \pm 0.7$  มิลลิกรัมต่อกรัม โดยมีค่าใช้จ่ายในการสกัดเพียง  $2.01 \pm 0.04$  บาทต่อมิลลิกรัม การเปลี่ยนภาชนะสกัดมาเป็นขวดแอมขนาด 231 มิลลิลิตร ทำให้ปัญหาที่เคยพบในการสกัดด้วยถังอัดความดันในแง่ของการทดลองที่ทำซ้ำแล้วได้ผลไม่เหมือนเดิม รวมถึงผลการทดลองที่อยู่ นอกเส้นแนวโน้มหมดไป

**Shixin Deng (2552)** ศึกษาผลและใบจากต้นยอด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว สมรรถนะสูง ในการตรวจสอบวิธีการสำหรับการวิเคราะห์สารแอนทราควิโนนในผลและใบจากต้นยอเพื่อตรวจสอบใช้สารแอนทราควิโนน 4 ชนิด ได้แก่ (1) 5, 15 – dimethylmorin – dol (5,15 – DMM), (2) รูซิดิน, (3) อะลิซาริน และ (4) รูไบดิน มีการตรวจสอบขีดจำกัดการตรวจวัดของสารที่ 1 - 4 อยู่ในช่วงของ 1.0 และ 20.0 ตรวจสอบความแม่นยำทั้งภายในวันและระหว่างวันของสารที่ 1 วิเคราะห์ได้น้อยกว่า 5.3% ค่าการกลับคืนอยู่ในช่วง 83.0% ถึง 93.3% ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เชิงเส้นมีค่า  $> 0.999$  การตรวจสอบความเข้มข้นของผลและใบจากต้นยอของ 5,15 – DMM อยู่ในช่วงระหว่าง 0.186 - 0.202  $\mu\text{g/mL}$  (ppm) และ 5.82 - 20.93 mg/ (ppb) ตามลำดับ ส่วนรูซิดิน รูไบดิน และอะริซาลิน ไม่ตรวจพบในกลุ่มตัวอย่างจากต้นยอ

**กันยารัตน์ ชลสิทธิ์ และคณะ (2558)** โกงฐน้ำเต้า เป็นเหง้าและรากแห้งของพืชชนิดไคชนิดหนึ่งใน 3 ชนิดที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Rheum officinal* Baill, *R.palmatum* L. และ *R.tanguticum* (Maxim.Ex Regel) Maxim.ex Balf ในวงศ์ Polygonaceae หรือเหง้าและ รากแห้งของพืช 2 หรือ 3 ชนิดข้างต้นปนกัน ตำราสรรพคุณยาไทย ระบุ โกงฐน้ำเต้ามีสรรพคุณเป็นยาระบายชนิด“รู้เปิดรู้ปิด” และมีฤทธิ์ฝาดสมาน แต่ยังไม่มีการกำหนดในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia) ดังนั้น ในปี พ.ศ.2556 คณะผู้วิจัยจึงได้ดำเนินโครงการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของ โกงฐน้ำเต้า โดยเก็บตัวอย่างจากสาธารณรัฐ ประชาชนจีนและร้านขายยาสมุนไพรใน

ประเทศไทยจำนวน 19 ตัวอย่าง พบว่าโกฐน้ำเต้ามีองค์ประกอบทางเคมีเป็นสารกลุ่ม anthraquinones และ tannins เมื่อตรวจสอบโดยใช้วิธี thin-layer chromatography พบสารสำคัญอย่างน้อย 3 ชนิด คือ chrysophanol, emodin และ rhein ผลการศึกษาคุณภาพของตัวอย่างดังกล่าว พบว่าปริมาณสารสกัดด้วยน้ำสารสกัดด้วยเอทานอล ความชื้น เถ้ารวม เถ้าที่ไม่ละลายในกรด และ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein คิดเป็นร้อยละ  $31.71 \pm 4.06$ ,  $31.71 \pm 4.06$ ,  $21.85 \pm 7.50$ ,  $8.18 \pm 1.13$ ,  $11.85 \pm 4.35$ ,  $0.76 \pm 0.38$  และ  $1.66 \pm 1.07$  ตามลำดับ นำผลที่ได้มาจัดทำข้อกำหนดคุณภาพทางเคมีของโกฐน้ำเต้าได้ดังนี้ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล และปริมาณ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein ไม่น้อยกว่าร้อยละ 27, 14 และ 0.6 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวมและปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดไม่เกินร้อยละ 10, 16 และ 1 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ผลการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพ และใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของโกฐน้ำเต้าในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยต่อไป

**J. Nurul Ain (2559)** ได้ศึกษาสัณฐานวิทยาที่ได้ถูกนำมาใช้สำหรับการย้อมสีของสิ่งทอมาตั้งแต่สมัยก่อนประวัติศาสตร์ ปัจจุบันมีการสนใจเพิ่มขึ้นในการย้อมสีธรรมชาติแทนสีสังเคราะห์เนื่องจากความตระหนักด้านสิ่งแวดล้อมทั่วไปและประชาชนให้ความสนใจเพิ่มขึ้นในผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ รากยอจึงถูกใช้เป็นแหล่งที่มาของสีย้อมธรรมชาติในการศึกษาครั้งนี้ สารสกัดจากรากของต้นยอที่ได้คือ สารแอนทราควิโนน ซึ่งสารประกอบสารแอนทราควิโนนคือ อะริซาริน ที่ให้สีแดงสำหรับการประยุกต์ใช้ย้อมสิ่งทอที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งการศึกษานี้ได้ดำเนินการในการตรวจสอบของอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (SLR) (ที่ 1: 100 - 5: 100) เวลาสกัด (ไม่เกิน 10 ชั่วโมง) และพีเอช (1 - 11) กับความเข้มข้นของแอนทราควิโนน สารสกัดแอนทราควิโนนได้รับการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคยูวีวิสิเบิลแอบซอร์บชันสเปกโทรสโกปี สภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดแอนทราควิโนนจากรากยออยู่ที่ 1: 400, 2 ชั่วโมงและค่า pH 7 ของ SLR เวลาการสกัด และค่า pH ตามลำดับ การศึกษาได้รับการพิสูจน์ว่ายอสามารถผลิตสีย้อมธรรมชาติที่มีสีที่แข็งแกร่งซึ่งสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ

**สุรศักดิ์ เหมวิมล (2560)** ได้ศึกษาเกี่ยวกับการนำคลิ่นอัลตราซาวด์และคลิ่นไมโครเวฟมาช่วยในการสกัดกลุ่มสารแอนโทออกซิแคนต์ที่เรียกว่า แอนทราควิโนนจากรากของต้นยอ เนื่องจากวิธีการนี้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดได้ดีมากขึ้นกว่าวิธีการดั้งเดิม เช่น การแช่ขุ่ย และวิธีการชอกที่เล็ด รวมทั้งดูผลกระทบในสภาวะต่างๆ ที่นำมาใช้ในการสกัดที่มาจากอุณหภูมิพลังงานของคลิ่นอัลตราซาวด์ ตัวทำละลายเอทานอลกับน้ำ ชนิดของตัวทำละลาย ซึ่งผลการทดลองพบว่าปริมาณการสกัดสารแอนทราควิโนนโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายจะเพิ่มขึ้นตาม

เวลา และอุณหภูมิที่ใช้ และเพิ่มขึ้นเมื่อใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัดโดยใช้คลีนอัลตราซาวนด์ ส่วนไมโครเวฟตัวทำละลายเมทานอลจะสกัดได้ดีที่สุด นอกจากนี้ พบว่าตัวทำละลายเมทานอลกับน้ำ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดได้มากขึ้นเนื่องจากตัวรากเกิดการพองตัวขึ้นเนื่องจากน้ำ ทำให้ตัวทำละลายสามารถเข้าไปสกัดได้ดียิ่งขึ้น โดยที่ปริมาณการสกัดใกล้เคียงกัน พบว่าการใช้วิธีการแช่เย็นและวิธีการชอกห์เลต จะใช้เวลาในการสกัดมากกว่าการใช้คลีนอัลตราซาวนด์และคลีนไมโครเวฟ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้คลีนอัลตราซาวนด์กับคลีนไมโครเวฟพบว่าการใช้คลีนไมโครเวฟจะใช้นเวลาน้อยกว่าในการสกัด รวมทั้งประสิทธิภาพในการต่อต้านอนุมูลอิสระโดยการใช้คลีนไมโครเวฟ ก็จะดีกว่าการใช้คลีนอัลตราซาวนด์และการแช่เย็นด้วย ดังนั้นการใช้คลีนไมโครเวฟมาช่วยในการสกัดนอกจากจะทำให้ช่วยย่นระยะเวลาในการสกัดแล้ว ยังพบว่าสารที่สกัดได้ยังมีความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระที่ดีอีกด้วย

**Yi-Lonh Xu *et al.* (2015)** การตรวจสอบสารพฤษเคมีในเมล็ดของขี้เหล็กนำไปสู่การแยกสารแอนทราควิโนนใหม่ซึ่งประกอบด้วย 1 aglycon 1 ชนิดและ กลัยโคไซด์ 4 ชนิด ผลที่ได้วิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้ข้อมูลทาง Spectroscopic ฤทธิ์การยับยั้งโดยใช้  $\alpha$ -glucosidase และผลของการย่อยสลายด้วยกรด ผลที่ได้ประเมินผลต่อการยับยั้ง ซึ่งแสดงค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $185 \pm 15 \mu M$

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย และอุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยนี้แสดงดังตารางที่ 3.1 และตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย

| สารเคมี                                             | บริษัทผู้ผลิต             |
|-----------------------------------------------------|---------------------------|
| Acetonitrile ( $C_2H_3N$ )                          | Scharlau                  |
| Anthraquinone 98% $C_{14}H_8O_2$                    | Acros                     |
| Ammonium Hydroxide ( $NH_4OH$ )                     | J.T.Baker                 |
| 2-batanol                                           | RCI Labscan               |
| Chloroform ( $CHCl_3$ )                             | RCI Labscan               |
| Dichloromethane ( $CH_2Cl_2$ )                      | Carlo Erba                |
| Diethyl ether $CH_3OCH_3$                           | RCI Labscan               |
| Ethanol ( $C_2H_5OH$ )                              | เวिल्ด์ เคมีคอล เซ็นเตอร์ |
| Ethyl Acetate ( $C_4H_8O_2$ )                       | Carlo erba                |
| Glacial acetic acid ( $CH_3COOH$ )                  | RCI Labscan               |
| Hydrochloric Acid (HCl)                             | RCI Labscan               |
| Hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ )                      | Carlo erba                |
| Iron(III)chloride hexahydrate, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ | UNILAB                    |
| Methanol ( $CH_3OH$ )                               | เวिल्ด์ เคมีคอล เซ็นเตอร์ |
| Methyl anthranilate ( $C_8H_9NO_2$ )                | Acros Organuics           |
| Phenol ( $C_6H_6O$ )                                | Loba Chemie               |
| Potassium hydroxide (KOH)                           | Carlo Erba                |
| Sodium acetate ( $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ )          | CARLO ERBA                |
| Sodium Chloride (NaCl)                              | Loba Chemie               |
| Sodium bicarbonate ( $NaHCO_3$ )                    | MERCK                     |

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

| สารเคมี                                          | บริษัทผู้ผลิต |
|--------------------------------------------------|---------------|
| Sodium hydroxide (NaOH)                          | Carlo Erba    |
| Sodium nitrite (NaNO <sub>2</sub> )              | Carlo Erba    |
| Sulphuric Acid (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) | RCI Labscan   |

ตารางที่ 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย

| อุปกรณ์และเครื่องมือ                                | บริษัทผู้ผลิต                  |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------|
| ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโคปี (UV-visible spectroscopy) | Shimadzu                       |
| เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง                          | Metler toledo                  |
| เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)                     | Hettich Zentrifugen            |
| เครื่องปั่น                                         | Kashiwa                        |
| Suction pump                                        | Divac                          |
| UV lamp                                             | Camag                          |
| Ultrasonic bath (sonicated)                         | 575HT/CREST                    |
| Vortex                                              | Scientific Industries          |
| Magnetic Stirrer                                    | Harmney                        |
| เครื่องให้ความร้อน (Hot Place)                      | EGO Made in Germany            |
| ตู้อบ (Oven)                                        | MEMMERT                        |
| เครื่องวัด pH (pH Meter)                            | METLER TOLEDO                  |
| อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)                  | U&V Holding (Thailand) CO.,LTD |
| เตาหลุมให้ความร้อน (Heating mantle)                 | WiZard                         |
| กระดาษกรองเบอร์ 1 (Filter paper)                    | Whatman                        |
| ทิมเบิล (Thimble)                                   | Whatman                        |

งานวิจัยนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ตอน ได้แก่

1. การวิเคราะห์หาปริมาณสารเมทิลแอนทรานิเลทใน จิง ข่า และตะไคร้
2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนทรานิเลทในรากขมิ้น ใบขมิ้นและฝักขมิ้น

### 3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารเมทิลแอนทรานิเลทใน จิง ข่า และตะไคร้

#### 3.2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

การเตรียมพืชตัวอย่าง โดยนำจิง ข่า และตะไคร้ ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำพืชตัวอย่างมาหั่นเป็นชิ้นขนาดปานกลาง จากนั้นนำพืชตัวอย่างไปปั่นให้ละเอียด เก็บพืชตัวอย่างใส่ในบีกเกอร์ และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C

#### 3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

- 1) เตรียมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 % (v/v)

ปีเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้น 98 % (w/v) มา 5 mL ละลายในเมทานอลปริมาตร 495 mL ใส่ลงในบีกเกอร์

- 2) เตรียมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 M

ปีเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้น 98 % (w/v) มา 26.65 ml ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 500 mL ที่มีน้ำกลั่นอยู่ 300 mL และปรับปริมาตรให้ครบ 500 mL ด้วยน้ำกลั่น

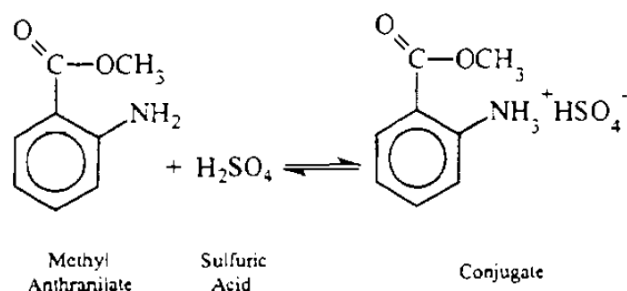
- 3) เตรียมสารละลายมาตรฐานเมทิลแอนทรานิเลท 1000 mg/L ในเมทานอล

ชั่งสารมาตรฐานเมทิลแอนทรานิเลท 0.1 g ละลายในเมทานอล และปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้ครบ 100 mL ด้วยเมทานอล

- 4) เตรียมสารละลายมาตรฐานเมทิลแอนทรานิเลท 1000 mg/L ใน 1 M กรดซัลฟูริก

ชั่งสารมาตรฐานเมทิลแอนทรานิเลท 0.1 g ละลายใน 1 M กรดซัลฟูริก และปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้ครบ 100 mL ด้วย 1 M กรดซัลฟูริก

ความคงอยู่ของเมทิลแอนทรานิเลท เมทิลแอนทรานิเลทสูญหายได้ง่าย และอาจจะมีการย่อยสลายเนื่องจาก เป็นสารระเหย และอ่อนแอต่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์ เมทิลแอนทรานิเลท ละลายน้ำได้ แต่จะมีความสามารถในการละลายสูงขึ้นในเมทานอล การเติมกรดซัลฟูริกเล็กน้อยลงในตัวทำละลาย เพื่อการสกัดด้วยตัวทำละลายช่วยในการรวมตัวกันของเอมีนทั้งสี่อย่างมีประสิทธิภาพ (Thomas M. Primus et al, 1995)



ภาพที่ 3.1 การรวมตัวกันของเอมีนด้วยกรดซัลฟูริก

ที่มา : Primus el at, 1995

### 3.2.3 การสกัดสารจากพืชตัวอย่าง

การสกัดสารเพื่อนำไปวิเคราะห์หาสารสกัดสารเมธิลแอนทรานิเลท ผู้วิจัยได้ใช้พืชตัวอย่าง 3 ชนิด คือ จิง ข่า และตะไคร้ ใช้ตัวทำละลาย 2 ตัว คือ 1% (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล และ 1 M กรดซัลฟูริก

#### 3.2.3.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย 1% (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล

1) นำพืชตัวอย่างที่ปั่นแล้ว มา 2 g ใส่หลอดทดลอง เติมตัวทำละลาย 1% กรดซัลฟูริกในเมทานอล 10 mL

2) นำไปเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลาประมาณ 10 วินาที

3) นำหลอดทดลองใส่ที่ตั้งไปแช่ใน Ultrasonic bath เป็นเวลา 20 นาที

ที่อุณหภูมิห้อง

4) นำหลอดทดลองไปใส่เครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1500 rpm เป็นเวลา 30

นาที

5) ปั่นเหวี่ยงเสร็จจุดสารสกัดใส่หลอดทดลองปิดจุกและนำไปแช่ตู้เย็น

#### 3.2.3.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก

ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.4.1 แต่เปลี่ยนตัวทำละลายจาก 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล 10 mL เป็น 1 M กรดซัลฟูริก 10 mL

### 3.2.4 การเตรียมกราฟมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลท

3.2.4.1 วิธีที่ 1 เตรียมสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทความเข้มข้น 15, 20, 25, 30, 50, 100, 120 และ 150 mg/L ใน 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล

เตรียมสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทความเข้มข้น 30, 50, 100, 120 และ 150 mg/L โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลท 1000 mg/L มา 0.75, 1.25, 2.5, 3 และ 3.75 mL ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 25 mL ด้วย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอลให้ครบ 25 mL เตรียมสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทความเข้มข้น 15, 20 และ 25 mg/L โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลท 1000 mg/L มา 3.75, 5 และ 6.25 mL ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 25 mL ด้วย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล

3.2.4.2 วิธีที่ 2 เตรียมสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 30, 50, 60 และ 100 mg/L ใน 1 M กรดซัลฟูริก

เตรียมสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทความเข้มข้น 30, 50, 60 และ 100 mg/L โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลท 1000 mg/L มา 0.75, 1.25, 1.5 และ 2.5 mL ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 25 mL ด้วย 1 M กรดซัลฟูริก เตรียมสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 mg/L โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลท 1000 mg/L มา 1.25, 2.5, 3.75 และ 5 mL ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 25 mL ด้วย 1 M กรดซัลฟูริก

### 3.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารเมธิลแอนทราโนเลทจากสารสกัด

นำสารสกัดข้อ 3.4 มาวัดค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับกราฟมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 273 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณสารเมธิลแอนทราโนเลท โดยคำนวณเทียบกับ dilution factor

### 3.2.6 การวิเคราะห์เมธิลแอนทราโนเลทโดยอาศัยปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน (diazotization)

#### 3.2.6.1 การเตรียม diazonium salt

- 1) ชั่งสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลท 0.5 กรัม ในขวดรูปกรวยขนาด 125 mL
- 2) เตรียมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) (จำนวนโมลเท่ากับ 3 เท่าของจำนวนโมลของเมธิลแอนทราโนเลท) โดยปิเปตมา 0.3 mL ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 15 ml แล้วนำสารละลายที่ได้เติมลงในเมธิลแอนทราโนเลท ในข้อ 1) ซึ่งแช่ในอ่างน้ำแข็งให้มีอุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส คนสารละลายไปด้วยตลอดเวลา เป็นเวลา 30 นาที

3) เตรียมสารละลาย Sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ) (เท่ากับจำนวนโมลของเมธิลแอนทรานิลเลท) ชั่งมา 0.2277 g ในน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อย หยอดสารละลาย Sodium nitrite ที่ได้ลงในสารละลายเมธิลแอนทรานิลเลท ช้าๆ คนสารละลายตลอดจนครบ 30 นาที โดยรักษาอุณหภูมิไว้ที่ 0-5 องศาเซลเซียส

### 3.2.6.2 การทำปฏิกิริยา coupling

1) เตรียมสารละลาย Phenol (จำนวนโมลเท่ากับ 0.5 เท่าของจำนวนโมลของเมธิลแอนทรานิลเลท) ชั่งมา 0.1553 g ในน้ำกลั่น 10 mL แล้วเติมลงในสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 3.7.1 คนต่อไปอีก 10 นาที ปรับ pH ให้มีค่าประมาณ 5 ด้วยสารละลาย 0.1 M Sodium carbonate แล้วคนต่อไปอีก 10 นาที หลังจากนั้นปรับ pH ให้มีค่าประมาณ 8 ด้วยสารละลาย 0.1 M Sodium carbonate แล้วคนต่อไปอีก 10 นาที

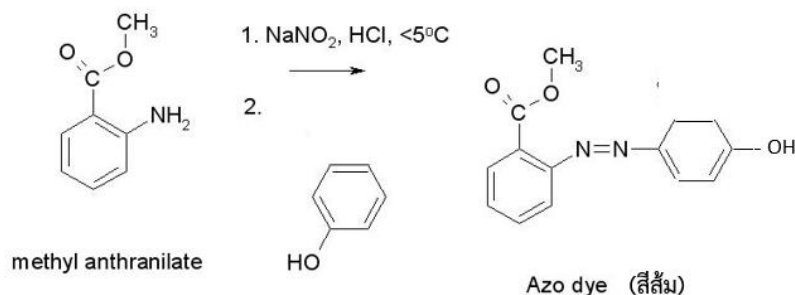
2) เติม Sodium chloride ( $\text{NaCl}$ ) เพื่อให้สีเอโซตกตะกอนออกมา กรองสีที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปคำนวณหา %yield

$$\text{การคำนวณหาผลผลิตร้อยละ (\%Yield)} = \frac{\text{น้ำหนักที่ได้จริง}}{\text{น้ำหนักตามทฤษฎี}} \times 100$$

3) ทดสอบความบริสุทธิ์ด้วย TLC โดยใช้ acetonitrile : น้ำ ที่อัตราส่วน 70 : 30 mobile phase และนำไปส่องเครื่อง UV lamp

4) นำไปคำนวณหาค่า  $R_f$

$$\text{การคำนวณหาค่า } R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (cm)}}$$



ภาพที่ 3.2 การเกิดปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชันในการสังเคราะห์สีเอโซจากสารมาตรฐานเมธิลแอนทรานิลเลท

### 3.2.7 การตรวจสอบความบริสุทธิ์สารเมธิลแอนทราโนเลทของสารสกัดโดยวิธี TLC

ทดสอบความบริสุทธิ์ด้วย TLC โดยจุดสารสกัดลงบนแผ่น TLC สำเร็จรูปห่างกันจุดละ 1 เซนติเมตร ใช้ acetonitrile : น้ำ ที่อัตราส่วน 70 : 30 mobile phase และนำไปส่องเครื่อง UV lamp

### 3.2.8 การพิสูจน์เอกลักษณ์เมธิลแอนทราโนเลทและสีเอโซโดยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR)

หยดสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลท และผงสีเอโซลงบนฐานใส่ตัวอย่าง จากนั้นวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR



ภาพที่ 3.3 เครื่อง FTIR รุ่น Spectrum TWO

## 3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนทราโนเลทในรากขยอ ใบขี้เหล็กและฝักคูณ

### 3.3.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

1. เก็บตัวอย่างพืช 3 ชนิด ได้แก่ รากขยอ ฝักคูณ และใบขี้เหล็ก ในพื้นที่ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์
2. การเลือกตัวอย่างพืช รากขยอจะเลือกรากตรงปลาย ฝักคูณเลือกฝักที่เอามาจากต้นเดียวกันและขนาดฝักที่รูปร่างใกล้เคียงกัน และใบขี้เหล็กเลือกใบที่แก่ ดังนี้



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 3.1 ลักษณะ (ก) รากขยอ (ข) ใบจีเหล็ก (ค) ฝักกุน

3. นำพืชตัวอย่างมาอบที่อุณหภูมิ  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 1 ชั่วโมงหรือ จนพืชแห้ง (เวลาขึ้นอยู่กับชนิดของพืช) นำพืชมาบดให้เป็นผง



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 3.2 พืชที่ผ่านการทำให้แห้งแล้วบดเป็นผง (ก) ผงรากขยอ (ข) ผงใบจีเหล็ก (ค) ผงฝักกุน

### 3.3.2 การทดสอบการละลายของสารมาตรฐานแอนทราควิโนน

เนื่องจากสารแอนทราควิโนนเป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อยจึงต้องหาตัวทำละลายสารแอนทราควิโนนที่เหมาะสมในการละลายสารมาตรฐาน โดยศึกษาตัวทำละลาย 2-butanone, Acetonitrile, 80% Ethanol และ 80% Acetone มาละลายสารแอนทราควิโนนโดยชั่งสาร 0.5 กรัม ละลายในตัวทำละลายแต่ละตัวปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผลที่ได้คือ 2-butanone ละลายได้ดีที่สุด รองลงมาเป็น Acetonitrile, 80% Ethanol และ 80% Acetone ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือก 2-butanone เป็นตัวทำละลายสารละลายมาตรฐานแอนทราควิโนน

### 3.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอนทราควิโนน

- 1) การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอนทราควิโนนความเข้มข้น 100 mg/L  
ชั่งสารมาตรฐานแอนทราควิโนน 0.01 กรัม ละลายด้วย 2-butanone เติใส่ในขวดวัดปริมาตรและปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร
- 2) การเตรียมสารแอนทราควิโนน 1 mg/L  
ปิเปตสารละลายแอนทราควิโนน 100 mg/L มา 0.25 มิลลิลิตรหรือ 250 ไมโครกรัม ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับด้วย 2-butanone จนครบ 25 มิลลิลิตร
- 3) การเตรียมสารแอนทราควิโนน 3 mg/L  
ปิเปตสารละลายแอนทราควิโนน 100 mg/L มา 0.75 มิลลิลิตรหรือ 750 ไมโครกรัม ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับด้วย 2-butanone จนครบ 25 มิลลิลิตร
- 4) การเตรียมสารแอนทราควิโนน 5 mg/L  
ปิเปตสารละลายแอนทราควิโนน 100 mg/L มา 1.5 มิลลิลิตรหรือ ลงในขวดวัด ปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับด้วย 2-butanone จนครบ 25 มิลลิลิตร
- 5) การเตรียมสารแอนทราควิโนน 10 mg/L  
ปิเปตสารละลายแอนทราควิโนน 100 mg/L มา 2.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับด้วย 2-butanone จนครบ 25 มิลลิลิตร
- 6) การเตรียมสารแอนทราควิโนน 20 mg/L  
ปิเปตสารละลายแอนทราควิโนน 100 mg/L มา 5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัด ปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับด้วย 2-butanone จนครบ 25 มิลลิลิตร
- 7) การเตรียมสารแอนทราควิโนน 30 mg/L  
ปิเปตสารละลายแอนทราควิโนน 100 mg/L มา 7.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับด้วย 2-butanone จนครบ 25 มิลลิลิตร
- 8) การเตรียมสารแอนทราควิโนน 40 mg/L  
ปิเปตสารละลายแอนทราควิโนน 100 mg/L มา 10 มิลลิลิตร ลงในขวดวัด ปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับด้วย 2-butanone จนครบ 25 มิลลิลิตร
- 9) การเตรียมสารแอนทราควิโนน 50 mg/L  
ปิเปตสารละลายแอนทราควิโนน 100 mg/L มา 12.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัด ปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับด้วย 2-butanone จนครบ 25 มิลลิลิตร

### 3.2.4 การศึกษาการสกัดสารแอนทราควิโนนในพืช

ครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการสกัด 2 วิธี คือ การสกัดโดยการต้มและวิธี Soxhlet extraction ด้วยตัวทำละลาย 70% 80% และ 95% (v/v) Ethanol มีรายละเอียดดังนี้

#### 1) การสกัดสารแอนทราควิโนนโดยวิธีการต้ม

ซึ่งตัวอย่างพืชบดแห้ง (รากข่อย ฝักกุน ใบจี้เหล็ก) ประมาณ 2 กรัม นำมาต้มกับน้ำ 200 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 90-95°C เป็นเวลา 7 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ นำขามระเหยไปอบและชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำสารตัวอย่างใส่ขามระเหยแห้ง นำสารที่ระเหยแห้งไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของสารตัวอย่างที่สกัดได้ และนำไปคำนวณหาร้อยละของสารสกัด

#### 2) การสกัดสารแอนทราควิโนนโดยวิธี Soxhlet extraction ด้วยตัวทำละลาย 70% 80% และ 95% (v/v) Ethanol

ซึ่งตัวอย่างพืชบดแห้งประมาณ 2 กรัม นำมาสกัดโดยใช้ Soxhlet ด้วยตัวทำละลาย 70% 80% และ 95% Ethanol จำนวน 200 มิลลิลิตร โดยใช้เวลาในการ Reflux 4 รอบ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำขามระเหยไปอบและชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำสารตัวอย่างใส่ขามระเหยแห้ง นำสารที่ระเหยแห้งไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของสารตัวอย่างที่สกัดได้ และนำไปคำนวณหาร้อยละของสารสกัด

### 3.2.5 การเตรียมสารตัวอย่าง

นำสารสกัดหยาบ (Crude) ที่ได้จากข้อ 3.2.2 มาปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายที่สกัดจนครบ 100 มิลลิลิตร ลักษณะ Crude ที่ได้จากการสกัด แสดงในภาพที่ ผล 1

### 3.2.6 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนน (Anthraquinone) (ดัดแปลงวิธีจาก พงศา ชัยกิจ, 2559)

ปฏิกิริยา Brontagen reaction ถูกใช้ในการตรวจสอบสาร Anthraquinone aglycones ในสารสกัดโดยชั่งสารสกัด 10 กรัม เติมน้ำละลาย 10%  $H_2SO_4$  ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่านำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่ อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ไปเติมน้ำละลายแอมโมเนีย (10%  $NH_3$ ) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าปรากฏสารเป็นสีชมพูแดงขึ้น แสดงว่าพบสารแอนทราควิโนน

### 3.2.7 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ (Anthraquinone glycoside) ทดสอบด้วยปฏิกิริยา Borntagen reaction (ดัดแปลงวิธีจาก สรศักดิ์ เหลี้ยวไชยพันธุ์, 2531)

1. ชั่งสารสกัด 10 กรัม เติม 0.5 N ของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น จำนวน 15 มิลลิลิตร พร้อมเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เจือจาง 3% จำนวน 7 มิลลิลิตร บนเครื่องอ่างน้ำ 10 นาที ปลอຍให้เย็นและกรอง เพื่อต้องการออกซิไดซ์อนุพันธ์ Anthracene อื่นๆให้อยู่ในสภาพ Anthraquinone

2. นำสารในข้อ 1 เติมกรดอะซิติก 10 หยด ทดสอบด้วยกระดาษฟิเอช ให้สารละลายอยู่ในสภาพเป็นกรด

3. ถ่ายสารละลายลงในกรวยแยก สกัดด้วย chloroform 15 มิลลิลิตร

4. นำชั้นคลอโรฟอร์มแบ่งออกเป็น 2 หลอด หลอดหนึ่งเป็น control อีกหลอดเติมแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เขย่าเบาๆ สังเกตสี ถ้าเกิดสีชมพูแสดงว่ามีสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์

5. ถ้าหากตัวอย่างพืชที่นำมาตรวจสอบมีสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์อยู่เป็นองค์ประกอบ จะสังเกตเห็นว่าจะเกิดสีชมพูหรือสีแดงในชั้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

### 3.2.8 การวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนทราควิโนน

ชั่งสารสกัด 10 มิลลิลิตร สกัดคลอโรฟิลล์ออกด้วยบิวทานอล 10 มิลลิลิตร จนกระทั่งสีเขียวของคลอโรฟิลล์หมดไป กรองด้วยกระดาษกรอง ขั้นตอนนี้ทำเฉพาะใบชี้หลัก เพราะคลอโรฟิลล์มีผลต่อการวิเคราะห์จึงต้องกำจัดออก ส่วนรากขอและฝักกวนนำสารสกัดที่ได้มา 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรและนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV – Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 325 nm คำนวณความเข้มข้นที่ได้โดยดูค่า Dilution factor ของแต่ละตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐานแอนทราควิโนน

### 3.2.9 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ (ดัดแปลงวิธีจาก อรภา สกุลพาณิชย์ และ วันดี กฤษนะพันธ์, 2008)

1. นำสารสกัด 30 มิลลิลิตร นำไปเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
2. นำสารสกัดที่ได้มา 20 มิลลิลิตร ใส่ในกรวยแยก เติม 2 M HCl 0.1 มิลลิลิตร
3. สกัดด้วย Chloroform 15 มิลลิลิตร สกัด 3 ครั้ง
4. นำชั้นของคลอโรฟอร์มทิ้ง
5. นำชั้นน้ำเติม  $\text{NaHCO}_3$  0.10 กรัม เขย่าเป็นเวลา 3 นาที และหมุนเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที อีก 20 นาที

6. นำสารที่ได้ประมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Ferric chloride hexahydrate 10.5% w/v 20 มิลลิลิตร ต้มเป็นเวลา 20 นาที
7. เติมกรด HCl เข้มข้น 1 มิลลิลิตร ต้มเป็นเวลา 20 นาที
8. เขย่าให้ตะกอนหายไป ทิ้งให้เย็นนำไปใส่กรวยแยก สกัดด้วย Diethyl ether 25 มิลลิลิตร 3 ครั้ง
9. นำชั้นของ Diethyl ether ล้างด้วยน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง
10. เก็บชั้น diethyl ether มาปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วย diethyl ether
11. นำสารจากข้อ 10 มาประมาณ 25 มิลลิลิตร ระเหยให้แห้ง
12. นำ crude ละลายกับ 10 มิลลิลิตร ของ 0.5% w/v  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  หรือ  $\text{CH}_3\text{COOMg}$  ใน methanol เกิดสารละลายสีแดง
13. นำสารละลายที่ได้ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm. ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer

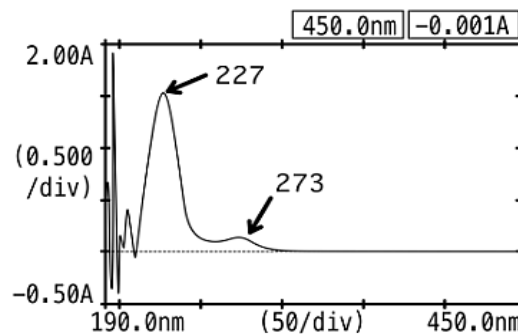
## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารเมซิลแอนทรานิลเลท (Methyl Anthranilate)

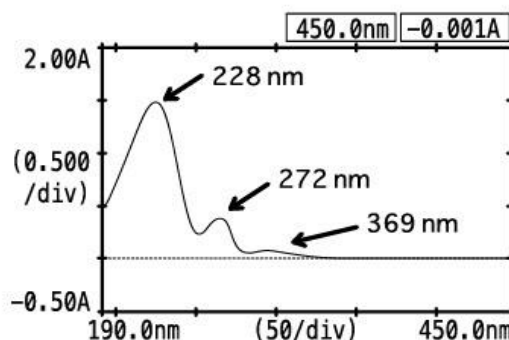
##### 4.1.1 ผลการศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารเมซิลแอนทรานิลเลท

การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารเมซิลแอนทรานิลเลท โดยนำสารมาตรฐานเมซิลแอนทรานิลเลท ในวิธีที่ 1 ความเข้มข้น 20 mg/L ใน 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล และวิธีที่ 2 ความเข้มข้น 5 mg/L ใน 1 M กรดซัลฟูริก นำไปสแกนที่ความยาวคลื่น 190 - 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ได้ผลดังภาพที่ 4.1 และ 4.2



ภาพที่ 4.1 การสแกนหาความยาวคลื่นที่ความเข้มข้น 20 mg/L ใน 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล

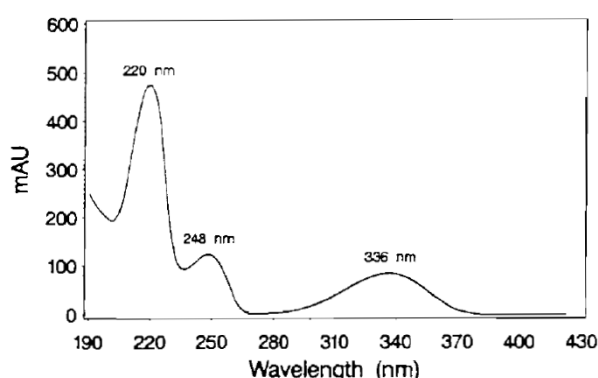
จากภาพที่ 4.1 การสแกนหาความยาวคลื่นของวิธีที่ 1 ที่ความเข้มข้น 20 mg/L ใน 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล ที่เหมาะสม พบว่า มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดขึ้น 2 จุด คือที่ความยาวคลื่น 227 และ 273 นาโนเมตร



ภาพที่ 4.2 การสแกนหาความยาวคลื่น ที่ความเข้มข้น 5 mg/L ใน 1 M กรดซัลฟูริก

จากภาพที่ 4.2 การสแกนหาความยาวคลื่นของวิธีที่ 2 ที่ความเข้มข้น 5 mg/L ที่เหมาะสมพบว่า มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดขึ้น 3 จุด คือที่ความยาวคลื่น 228, 272 และ 369 นาโนเมตร

จากการวิจัยของ Thomas M. Primus, et al (1995) ได้ทำการศึกษา UV Spectrum ของเมธิลแอนทราโนเลท ได้ดังภาพที่ 4.3 พบลักษณะการเกิดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 3 ความยาวคลื่น ได้แก่ 220, 248 และ 336 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้ อย่างไรก็ตามในการเลือกค่าการดูดกลืนแสง พบว่า ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร มีการดูดกลืนแสงที่ดีที่สุด แต่มีสิ่งรบกวนที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร ไม่มีการถูกรบกวน แต่มีความไวไม่พอในการวัดค่าการดูดกลืนแสง ดังนั้นความยาวคลื่น 248 นาโนเมตร จึงได้รับเลือกให้เป็นความยาวคลื่นที่ดีที่สุดในการวัด เพราะไม่มีการถูกรบกวนและความไวในการวัดค่าการดูดกลืนแสงเพียงพอ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกความยาวคลื่นที่ 273 นาโนเมตร เป็นค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณสารเมธิลแอนทราโนเลทต่อไป



ภาพที่ 4.3 การดูดกลืนแสงของสารเมธิลแอนทราโนเลทใน acetonitrile : น้ำ อัตราส่วน 70:30

ที่มา : Thomas M. Primus et al, 1995

#### 4.1.2 ผลการวิเคราะห์สารเมธิลแอนทราโนเลทจากขิง ข่า และตะไคร้

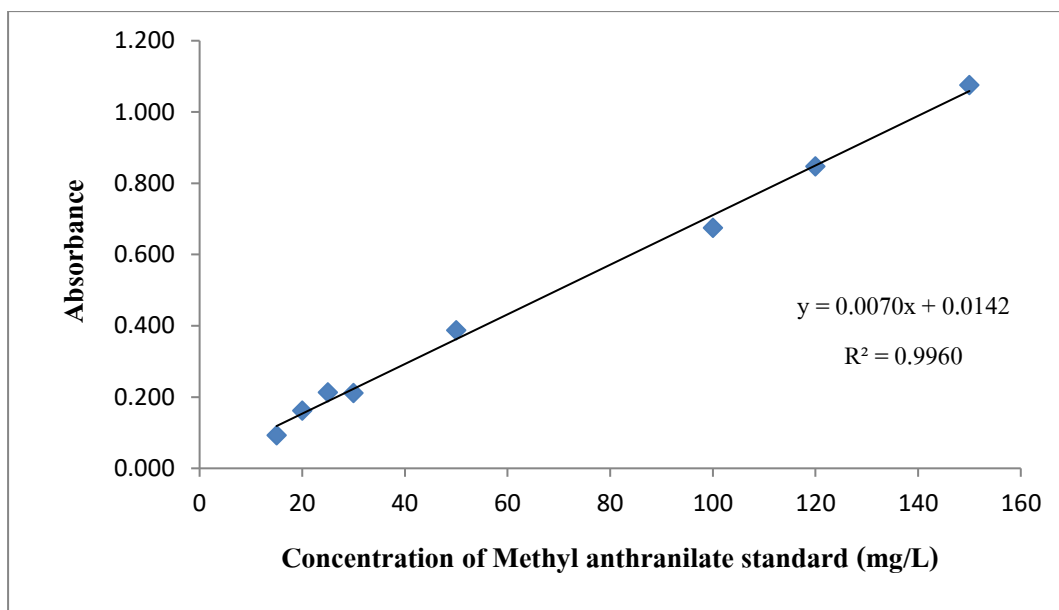
จากการศึกษาปริมาณสารเมธิลแอนทราโนเลททั้งหมดที่ได้จาก ขิง ข่า และตะไคร้ ที่สกัดด้วย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล และ 1 M กรดซัลฟูริก โดยทำการวัดค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทที่ความยาวคลื่น 273 นาโนเมตร ดังตารางที่ 4.1 และตารางที่ 4.2 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทกับค่าดูดกลืนแสง ดังภาพที่ 4.4 และภาพที่ 4.5

ตารางที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมทิลแอนทรานิเลทในตัวอย่าง 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล

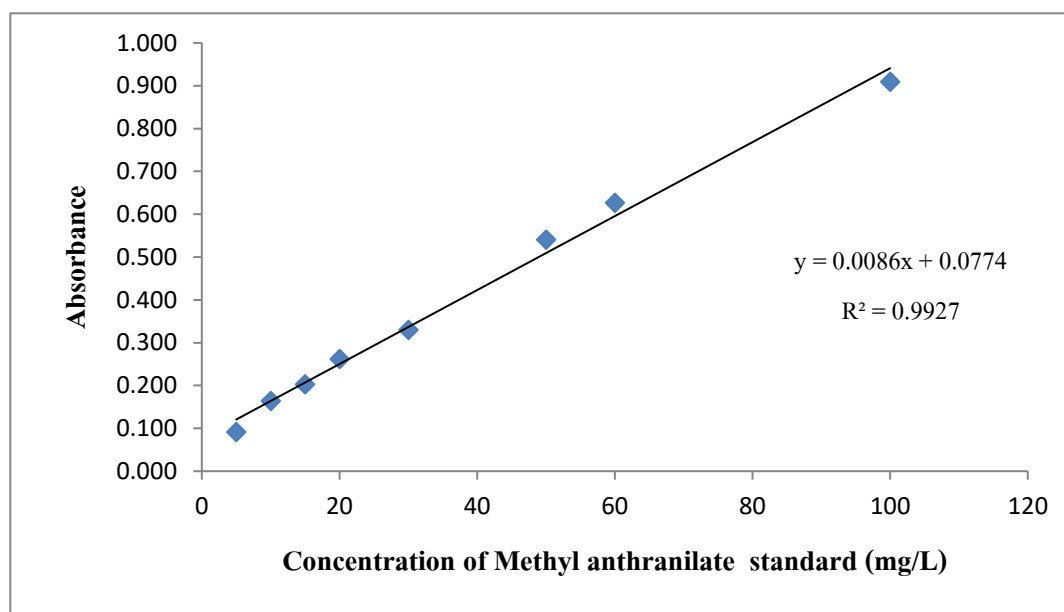
| Concentration of Methyl anthranilate in<br>1 % (v/v) sulfuric acid in methanol | Absorbance   |
|--------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 15                                                                             | 0.093 ±0.004 |
| 20                                                                             | 0.162 ±0.004 |
| 25                                                                             | 0.213 ±0.006 |
| 30                                                                             | 0.211 ±0.002 |
| 50                                                                             | 0.388 ±0.005 |
| 100                                                                            | 0.675 ±0.007 |
| 120                                                                            | 0.847 ±0.002 |
| 150                                                                            | 1.076 ±0.042 |

ตารางที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมทิลแอนทรานิเลทในตัวอย่าง 1 M กรดซัลฟูริก

| Concentration of Methyl anthranilate in<br>1 M sulfuric acid (mg/L) | Absorbance   |
|---------------------------------------------------------------------|--------------|
| 5                                                                   | 0.091 ±0.006 |
| 10                                                                  | 0.163 ±0.007 |
| 15                                                                  | 0.203 ±0.003 |
| 20                                                                  | 0.262 ±0.002 |
| 30                                                                  | 0.330 ±0.006 |
| 50                                                                  | 0.540 ±0.006 |
| 60                                                                  | 0.626 ±0.011 |
| 100                                                                 | 0.909 ±0.005 |



ภาพที่ 4.4 กราฟมาตรฐานเมธิลแอนทรานิลเลทในตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกที่มีความยาวคลื่น 273 นาโนเมตร



ภาพที่ 4.5 กราฟมาตรฐานเมธิลแอนทรานิลเลทในตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริกที่มีความยาวคลื่น 273 นาโนเมตร

จากการเปรียบเทียบ Linear Regression Data ของทั้ง 2 วิธี แสดงดังตารางที่ 4.3

**ตารางที่ 4.3** เปรียบเทียบค่า Linear Regression Data ของความเข้มข้นของเมธิลแอนทรานิเลท กับ ค่าการดูดกลืนแสง

| Solvent                             | Slope  | y-intercept | $r^2$  |
|-------------------------------------|--------|-------------|--------|
| 1 % (v/v) sulfuric acid in methanol | 0.0070 | 0.0142      | 0.9960 |
| 1 M sulfuric acid                   | 0.0086 | 0.0774      | 0.9927 |

จากตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบค่า Linear Regression Data ของความเข้มข้นของเมธิลแอนทรานิเลท กับ ค่าการดูดกลืนแสง พบว่า ค่า slope ที่ดีต้องมีค่าที่สูงเพราะจะมีความไวในการวัดที่ดี ดังนั้นค่าความชันของตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริกมีค่าความชันที่ดีกว่าค่าความชันของตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล จึงมีความไวในการวัดที่ดีกว่า และค่า y-intercept หรือ ค่าจุดตัดแกน y ถ้าหากค่า y-intercept มีค่าใกล้เคียง 0 มากเท่าไรยิ่งมีแนวโน้มที่ดี จากตารางพบว่า ค่า y-intercept ของตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล มีค่าใกล้เคียง 0 มากที่สุดจึงมีแนวโน้มที่ดีในการวิเคราะห์ และ  $r^2$  หรือ coefficient of determination เป็นค่าที่แสดงถึงระดับความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทั้งสองยังมีค่าใกล้ 1 ยิ่งดี แสดงถึงตัวแปรทั้งสองมีความสัมพันธ์กันมาก และในการวิเคราะห์ค่า  $r^2$  ไม่ควรต่ำกว่า 0.98

จากการศึกษาปริมาณสารเมธิลแอนทรานิเลทที่ได้จาก ขิง ข่า และตะไคร้ สกัดด้วยตัวทำละลาย 1 % กรดซัลฟูริก และ 1 M กรดซัลฟูริก และนำไปเจือจางในปริมาณที่ต่างกัน ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 273 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเมธิลแอนทรานิเลท เพื่อคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของสารเมธิลแอนทรานิเลท ได้ผลดังตารางที่ 4.4 และคำนวณเป็นหน่วย % w/w ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงเมธิลแอนทรานิลเลทจากสารสกัดจากขิง ข่า และตะไคร้

| Extract                 | Absorbance                |               | Amount of Methyl anthranilate (mg/L) |               |
|-------------------------|---------------------------|---------------|--------------------------------------|---------------|
|                         | 1% (v/v)                  | 1 M           | 1%(v/v) sulfuric                     | 1 M           |
|                         | sulfuric acid in methanol | sulfuric acid | acid in methanol                     | sulfuric acid |
| ขิง (ginger)*           | 0.861                     | 0.407         | 1,209.7                              | 383.3         |
| ข่า (galangal)***       | -                         | 0.318         | -                                    | 1,399         |
| ข่า (galangal)****      | 0.968                     | -             | 13,626                               | -             |
| ตะไคร้ (lemon grass)**  | -                         | 0.444         | -                                    | 852.6         |
| ตะไคร้ (lemon grass)*** | 0.392                     | -             | 2,698.5                              | -             |

\*Dilute 10x \*\*Dilute20x \*\*\*Dilute50x \*\*\*\*Dilute100x

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเมธิลแอนทรานิลเลทในพืชสมุนไพรในหน่วย % w/w

| Solvent                             | % w/w                |
|-------------------------------------|----------------------|
| ขิง (ginger)                        | 0.605                |
| 1 % (v/v) sulfuric acid in methanol | ข่า (galangal)       |
|                                     | ตะไคร้ (lemon grass) |
|                                     | ขิง (ginger)         |
| 1 M sulfuric acid                   | ข่า (galangal)       |
|                                     | ตะไคร้ (lemon grass) |

จากตารางที่ 4.5 หาปริมาณเมธิลแอนทรานิลเลทในพืชสมุนไพรในหน่วย % w/w เพื่อต้องการเปรียบเทียบปริมาณสารเมธิลแอนทรานิลเลทที่สกัดได้กับพืชสมุนไพรตัวอย่าง โดยการคำนวณหาในหน่วย % w/w จากการคำนวณพืชสมุนไพรสด 2 g พบว่ามีปริมาณสารเมธิลแอนทรานิลเลทมากที่สุดคือ ข่า ตะไคร้ และขิง ตามลำดับในทั้งสองตัวทำละลาย และพบว่าการสกัดด้วย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล สกัดสารได้ดีกว่า 1 M กรดซัลฟูริก โดย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล มีปริมาณเมธิลแอนทรานิลเลท ใน ข่า ตะไคร้ และ ขิง เท่ากับ 6.813, 1.349 และ 0.605 % w/w พืชสด ตามลำดับ ส่วนการสกัดด้วย 1 M กรดซัลฟูริก มีปริมาณเมธิลแอนทรานิลเลทใน ข่า ตะไคร้ และขิง เท่ากับ 0.700, 0.426 และ 0.192 % w/w พืชสด ตามลำดับ

#### 4.1.3 ผลการวิเคราะห์สารเมธิลแอนทรานิลเลทโดยอาศัยปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน (diazotization)

จากการสังเคราะห์สีเอโซจากสารมาตรฐานเมธิลแอนทรานิลเลทได้เป็นสีส้มดังภาพที่ 4.6 น้ำหนักที่ชั่งได้มาคำนวณหาผลผลิตร้อยละ (% yield) ของการสังเคราะห์สีเอโซจากเมธิลแอนทรานิลเลทจากการสังเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ได้ผลดังตารางที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 สีเอโซ (azo dye) ที่ได้จากปฏิกิริยา diazotization

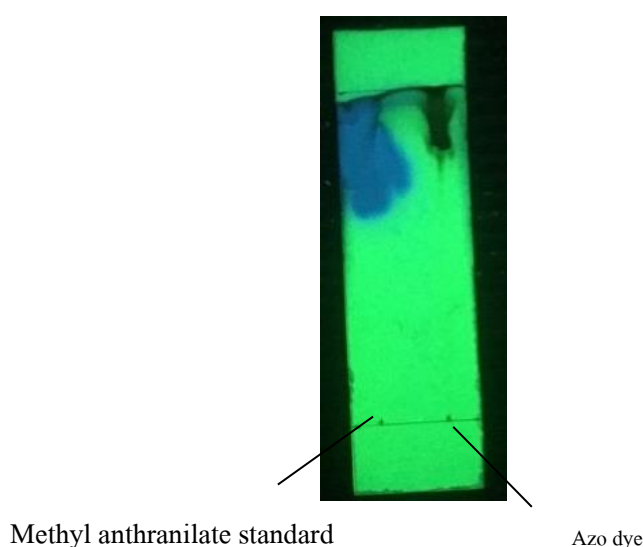
ตารางที่ 4.6 การคำนวณหาผลผลิตร้อยละ (% Yield) จากการสังเคราะห์สีเอโซจากเมธิลแอนทรานิลเลท

| No     | Methyl anthranilate (g) | Azo dye (g) | % Yield       |
|--------|-------------------------|-------------|---------------|
| 1      | 0.5116                  | 0.2331      | 55.15         |
| 2      | 0.5012                  | 0.1602      | 37.90         |
| 3      | 0.5016                  | 0.2637      | 62.38         |
| เฉลี่ย | -                       | -           | 51.81 ± 10.27 |

จากตารางที่ 4.6 จากการคำนวณหาผลผลิตร้อยละ (% yield) ของการสังเคราะห์สีเอโซจากเมธิลแอนทรานิลเลทจากการสังเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง พบว่าได้ผลผลิตไม่ถึง 100 % จากการนำตัวอย่างสารสกัดมาทำการวิเคราะห์ด้วยปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน พบว่าไม่เกิดสีเอโซ อาจเป็นเพราะว่าปฏิกิริยาไม่สมบูรณ์หรือปริมาณสารเมธิลแอนทรานิลเลทในสารสกัดมีไม่เพียงพอต่อการสังเคราะห์สีเอโซ

#### 4.1.4 การทดสอบความบริสุทธิ์ของสารเมธิลแอนทราโนเลทในปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน (diazotization)

จากการศึกษาการเคลื่อนที่ของสารด้วยวิธี TLC เพื่อทดสอบความบริสุทธิ์ ( $R_f$ ) ของสารเมธิล-แอนทราโนเลทที่นำไปทำการสังเคราะห์สีเอโซเข้า 3 ครั้ง โดยใช้ อะซิโตไนโตรล์ : น้ำ ที่อัตราส่วน 70 : 30 เป็น mobile phase ดังภาพที่ 4.7



ภาพที่ 4.7 การเคลื่อนที่ของสีเอโซในการทดสอบความบริสุทธิ์ด้วยวิธี TLC ใน UV lamp 254 nm.

ตารางที่ 4.7 ค่าความบริสุทธิ์ ( $R_f$ ) ของสารเมธิลแอนทราโนเลทที่นำไปทำการสังเคราะห์สีเอโซ

| No        | $R_f$ of methyl anthranilate | $R_f$ of azo dye |
|-----------|------------------------------|------------------|
| 1         | 0.72                         | 0.75             |
| 2         | 0.78                         | 0.80             |
| 3         | 0.74                         | 0.83             |
| ค่าเฉลี่ย | $0.75 \pm 0.03$              | $0.79 \pm 0.04$  |

จากภาพที่ 4.7 ทดสอบความบริสุทธิ์ของสีเอโซ พบว่าสารขึ้นแค่แถบเดียว ซึ่งบ่งบอกว่ามีสารแค่ชนิดเดียว และพบว่าค่า  $R_f$  มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.79 \pm 0.04$

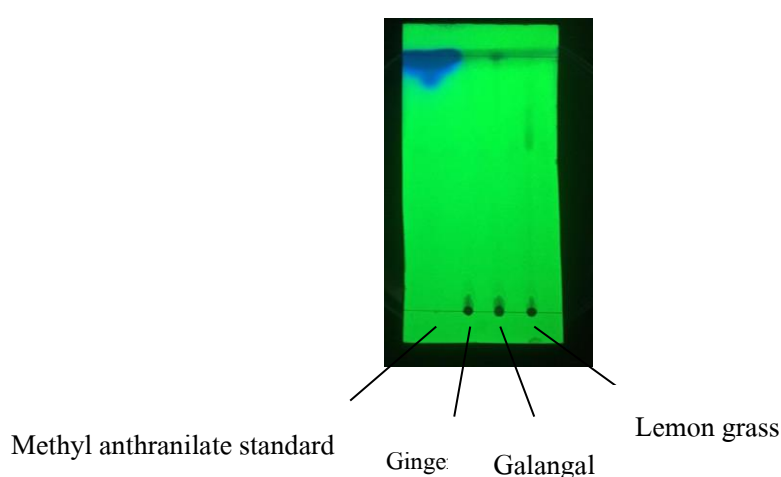
#### 4.1.5 การทดสอบความบริสุทธิ์สารเมธิลแอนทรานิเลทในสารสกัด

จากการศึกษาการเคลื่อนที่ของสารด้วยวิธี TLC เพื่อทดสอบความบริสุทธิ์ ( $R_f$ ) ของสารเมธิล-แอนทรานิเลทในสารสกัด โดยการใช้ อะซิโตนไนโตรล์ : น้ำ ที่อัตราส่วน 70 : 30 เป็น mobile phase ดังภาพที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ค่าความบริสุทธิ์ ( $R_f$ ) ของสารเมธิลแอนทรานิเลทในสารสกัด

| Solvent                             | $R_f$    |              |                |                      |
|-------------------------------------|----------|--------------|----------------|----------------------|
|                                     | Standard | จิง (ginger) | ข่า (galangal) | ตะไคร้ (lemon grass) |
| 1 % (v/v) sulfuric acid in methanol | 0.89     | 0.89         | 0.89           | 0.89, 0.67           |
| 1 M sulfuric acid                   | 0.86     | 0.86         | 0.86           | 0.86, 0.39           |

จากตารางที่ 4.8 พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.89 และสารสกัดที่สกัดด้วย 1 M กรดซัลฟูริก มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.86 ซึ่งทั้งสองตัวทำละลายมีค่าเท่ากับสารมาตรฐาน เป็นสิ่งยืนยันว่าสารที่สกัดได้เป็นสารเมธิลแอนทรานิเลท เพราะมีค่า  $R_f$  เท่ากันกับสารมาตรฐาน สำหรับสารสกัดจากตะไคร้พบว่ามีค่า  $R_f$  สองค่าแสดงว่าสารสกัดที่สกัดได้ไม่ได้มีเฉพาะสารเมธิลแอนทรานิเลท แต่ยังมีสารสกัดตัวอื่นร่วมอยู่ด้วย ดังภาพที่ 4.8

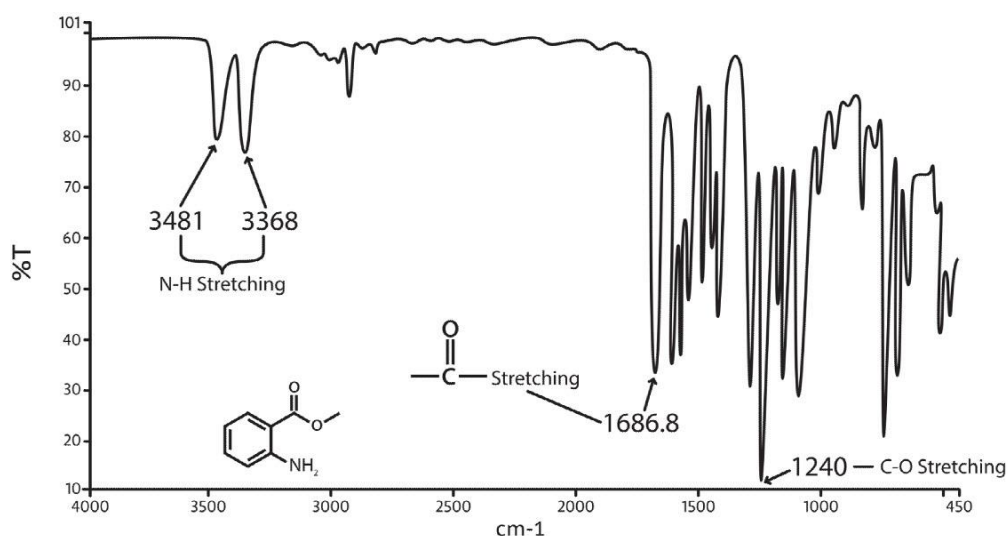


ภาพที่ 4.8 การเคลื่อนที่ของสารสกัดในการทดสอบความบริสุทธิ์ด้วยวิธี TLC ใน UV lamp 254 nm.

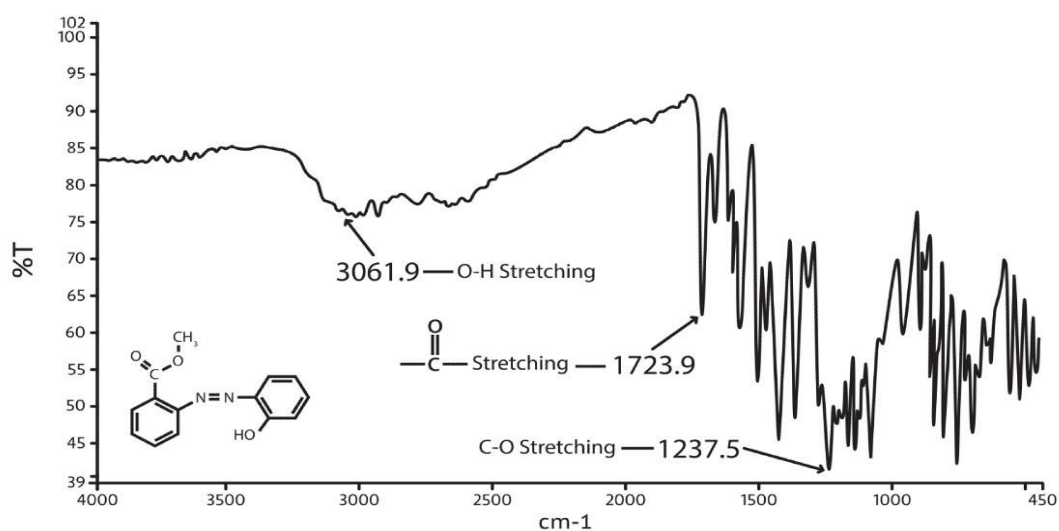
#### 4.1.6 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์เมธิลแอนทราโนเลทและสีเอโซโดยเทคนิค

##### Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR)

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสีเอโซที่สังเคราะห์ได้ โดยการเปรียบเทียบ Spectrum ระหว่างสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทกับสีเอโซ โดยดูที่หมู่ฟังก์ชัน ด้วยเทคนิค FTIR ได้ดังภาพที่ 4.9 และ 4.10



ภาพที่ 4.9 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทด้วยเครื่อง FTIR



ภาพที่ 4.10 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสีเอโซด้วยเครื่อง FTIR

สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลดดังภาพที่ 4.9 มีหมู่เอมีนขึ้นที่ความถี่ 3481.6 และ 3368  $\text{cm}^{-1}$  หมู่คีโตนขึ้นที่ความถี่ 1686.8  $\text{cm}^{-1}$  และพบหมู่คาร์บอกซิลิกขึ้นที่ความถี่ 1240  $\text{cm}^{-1}$  และภาพที่ 4.10 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสีเอโซ มีหมู่ Phenol ขึ้นที่ความถี่ 3061.9  $\text{cm}^{-1}$  แทนที่หมู่เอมีน อัลดีไฮด์ขึ้นที่ความถี่ 1723.9  $\text{cm}^{-1}$  และพบหมู่คาร์บอกซิลิกที่ความถี่ 1237.5  $\text{cm}^{-1}$  จากภาพทั้งสองพบว่าการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค FTIR สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลดและสีเอโซได้

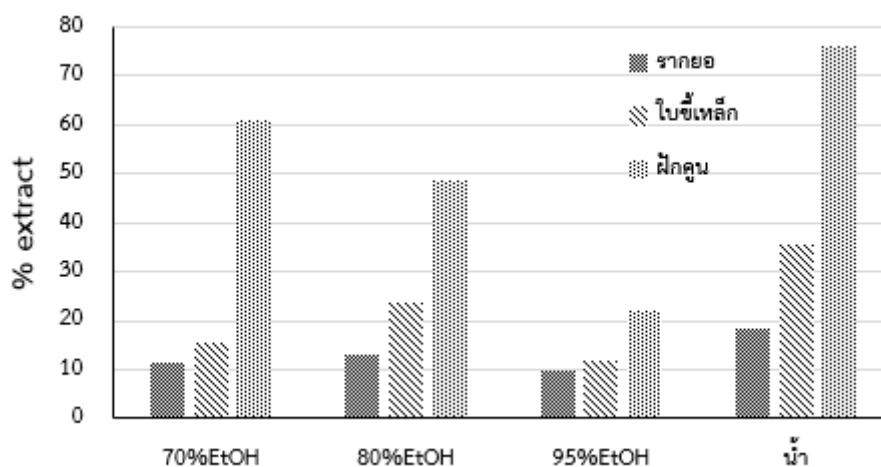
## 4.2 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารแอนทราควิโนน (Anthraquinone)

### 4.2.1 การหรร้อยละสารสกัดที่ได้จากพืช

จากการสกัดสารแอนทราควิโนนโดย 2 วิธี คือ วิธีการต้ม และ Soxhlet extraction วิธี Soxhlet extraction ใช้ตัวทำละลาย 70% 80% และ 95%(v/v) Ethanol ทำการ Reflux จำนวน 4 รอบ ส่วนวิธีต้มใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออก ได้เป็นสารสกัดหยาบ นำมาคำนวณหาร้อยละสารสกัดที่ได้จากรากขอ ใบจี้เหล็ก และฝักคูณ ดังตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.11

ตารางที่ 4.9 ร้อยละของสารสกัดที่ได้จากพืชแต่ละชนิด

| Solvent            | Sample                          | Weigh (g) | Crude extract (g) | % Yield |
|--------------------|---------------------------------|-----------|-------------------|---------|
| 70% v/v<br>ethanol | รากขอ (Noni root)               | 2.0055    | 0.2294            | 11.44   |
|                    | ใบจี้เหล็ก (Cassod tree leaves) | 2.0051    | 0.3093            | 15.42   |
|                    | ฝักคูณ (Golden shower pods)     | 2.0042    | 1.2188            | 60.81   |
| 80% v/v<br>ethanol | รากขอ (Noni root)               | 2.0081    | 0.2628            | 13.09   |
|                    | ใบจี้เหล็ก (Cassod tree leaves) | 2.0085    | 0.4757            | 23.68   |
|                    | ฝักคูณ (Golden shower pods)     | 2.0080    | 0.9796            | 48.78   |
| 95% v/v<br>ethanol | รากขอ (Noni root)               | 2.0075    | 0.1944            | 9.68    |
|                    | ใบจี้เหล็ก (Cassod tree leaves) | 2.0070    | 0.2357            | 11.74   |
|                    | ฝักคูณ (Golden shower pods)     | 2.0080    | 0.4451            | 22.17   |
| Water              | รากขอ (Noni root)               | 2.0070    | 0.3709            | 18.48   |
|                    | ใบจี้เหล็ก (Cassod tree leaves) | 2.0076    | 0.7173            | 35.73   |
|                    | ฝักคูณ (Golden shower pods)     | 2.0079    | 1.5277            | 76.08   |



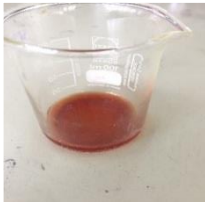
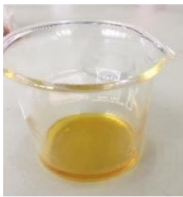
ภาพที่ 4.11 ร้อยละสารสกัดของพืชแต่ละชนิด

จากตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.11 จากการคำนวณหาร้อยละสารสกัดจากรากยอ ใบชี้เหล็กและ ฝักคูนโดยใช้ตัวทำละลายที่ต่างกัน พบว่าน้ำมีค่าร้อยละการสกัดมากที่สุดโดยสกัดรากยอ ใบชี้เหล็ก และฝักคูนได้เท่ากับ 18.48 35.73 และ 76.08% ตามลำดับ รองลงมาคือ 70% ethanol ได้สารสกัด เท่ากับ 11.44 15.42 และ 60.81% ตามลำดับ ตามด้วย 80% ethanol ได้สารสกัดเท่ากับ 13.09 23.68 และ 48.78% ตามลำดับ และ 95% ethanol ได้สารสกัดเท่ากับ 9.68 11.74 และ 22.17% ตามลำดับ ซึ่ง แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายน้ำมีความสามารถในการสกัดสารได้จำนวนมาก ดังนั้นองค์ประกอบ ส่วนใหญ่ที่อยู่ในพืชละลายได้ดีในน้ำ

#### 4.2.2 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนน (Antraquinones)

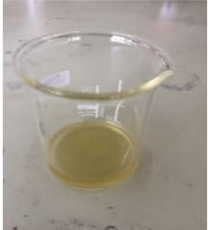
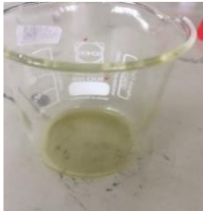
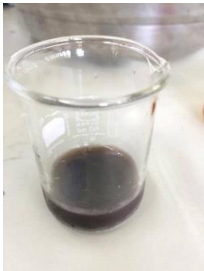
การตรวจสอบสารแอนทราควิโนน (คัดแปลงจาก พอตา ชัยกิจ, 2559) โดยการ ตรวจสอบพืชทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ รากยอ ใบชี้เหล็ก และฝักคูน โดยการเติม 10%  $\text{NH}_3$  ถ้าปรากฏสาร เป็นสีชมพูแดงขึ้นแสดงว่าพบสารแอนทราควิโนน ดังตารางที่ 4.10-4.12

ตารางที่ 4.10 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของรากข่อย

| Solvent            |                                                                                     | Color of extract |                                                                                      | Color of extract in 10% NH <sub>3</sub> solution |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 70% v/v<br>Ethanol |    | Yellow           |    | Pink-red                                         |
| 80% v/v<br>Ethanol |    | Yellow           |    | Pink-red                                         |
| 95% v/v<br>Ethanol |  | Yellow           |  | Pink-red                                         |
| Water              |  | Red-orange       |  | Pink-red                                         |

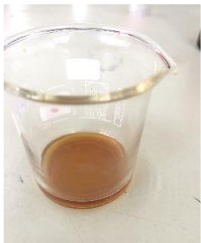
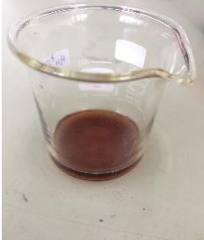
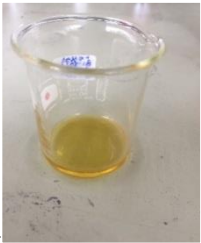
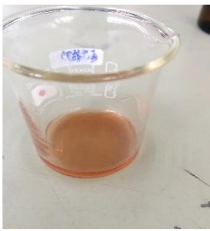
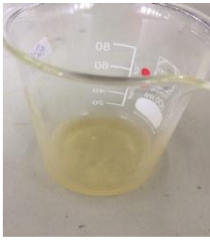
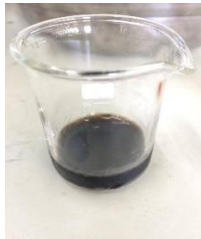
จากตารางที่ 4.10 การตรวจสอบคุณสมบัติด้วยปฏิกิริยา Brontrager reaction ของสารแอนทราควิโนนของรากข่อย พบว่าเมื่อเติม 10% NH<sub>3</sub> ลงไปปรากฏเป็นสีชมพูแดง และสีชมพูส้มในทุกตัวอย่างที่ละลายซึ่งแสดงว่ามีสารแอนทราควิโนน

ตารางที่ 4.11 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของใบขี้เหล็ก

| Solvent            |                                                                                     | Color of extract |                                                                                      | Color of extract in 10% $\text{NH}_3$ solution |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 70% v/v<br>Ethanol |    | Green- yellow    |    | Green- yellow                                  |
| 80% v/v<br>Ethanol |    | Light Green      |    | Light Green                                    |
| 95% v/v<br>Ethanol |  | Dark Green       |  | Dark Green                                     |
| Water              |  | Purple           |  | Purple                                         |

จากตารางที่ 4.11 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของใบขี้เหล็กพบว่าเมื่อเติม 10%  $\text{NH}_3$  ลงไปปรากฏเป็นสีชมพูแดงแค่ตอนที่หยด เนื่องจากการสกัดใบขี้เหล็กแต่ละความเข้มข้นเกิดสีเขียวจากคลอโรฟิลล์ ทำให้การทดสอบสีปรากฏให้เห็นสีที่เปลี่ยนแปลงเพียงแค่ตอนที่หยดสารลงเท่านั้น ดังนั้นสารแอนทราควิโนนอาจจะมีปริมาณที่น้อยจึงทำให้สีที่ปรากฏขึ้นเพียงตอนที่หยดลงทุกตัวทำละลาย

ตารางที่ 4.12 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของฝักกุน

| Solvent            |                                                                                     | Color of extract |                                                                                      | Color of extract in 10% NH <sub>3</sub> solution |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 70% v/v<br>Ethanol |    | Orange           |    | Pink-red                                         |
| 80% v/v<br>Ethanol |    | yellow           |    | Pink                                             |
| 95% v/v<br>Ethanol |  | Light yellow     |   | Pink                                             |
| Water              |  | Black            |  | Pink-red                                         |

จากตารางที่ 4.12 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของฝักกุนพบว่าเมื่อเติม 10% NH<sub>3</sub> ลงไปปรากฏเป็นสีชมพูแดง ชมพูเข้ม และสีชมพูอ่อน ในทุกตัวทำละลายซึ่งแสดงว่ามีสารแอนทราควิโนน

### 4.2.3 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์

การตรวจสอบสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ (ดัดแปลงวิธีจาก สรศักดิ์ เหลี้ยวไชยพันธุ์, 2531) โดยตรวจสอบพืช 3 ชนิดคือ รากขอ ใบขี้เหล็กและฝักกุน โดยดูสีชมพูที่เกิดขึ้นเมื่อมีการเติม  $\text{NH}_4\text{OH}$  ดังตารางที่ 4.13-4.15

ตารางที่ 4.13 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ของรากขอ

| Solvent            |                                                                                     | Color of extract |                                                                                       | Color of extract in $\text{NH}_4\text{OH}$ solution |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 70% v/v<br>Ethanol |    | Yellow           |    | Coral                                               |
| 80% v/v<br>Ethanol |  | Colorless        |  | Pink                                                |
| 95% v/v<br>Ethanol |  | Yellow           |  | Coral                                               |
| Water              |  | Yellow           |  | Coral                                               |

จากตารางที่ 4.13 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ของรากขอพบว่าเมื่อเติม  $\text{NH}_4\text{OH}$  ลงไป 70%, 80%, 95%(v/v) Ethanol และน้ำ ปรากฏเป็นสีชมพูอมส้ม ชมพู ในทุกตัวทำละลายซึ่งแสดงว่ามีสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ทุกตัวทำละลาย

ตารางที่ 4.14 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของใบชี้เหล็ก

| Solvent            |                                                                                     | Color of extract |                                                                                       | Color of extract in $\text{NH}_4\text{OH}$ solution |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 70% v/v<br>Ethanol |    | Colorless        |    | Opaque                                              |
| 80% v/v<br>Ethanol |    | Colorless        |    | Opaque                                              |
| 95% v/v<br>Ethanol |  | Green            |  | Yellow opaque                                       |
| Water              |  | Colorless        |  | Opaque                                              |

จากตารางที่ 4.14 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์โดยใบชี้เหล็กมีการขจัดคลอโรฟิลล์ออกและจำนวนครั้งที่สกัดไม่เท่ากัน โดยที่ 70%, 80% ethanol และน้ำสกัดเพียง 2 ครั้ง ส่วน 95% Ethanol สกัดจำนวน 4 ครั้ง จึงพบว่าใบชี้เหล็กเมื่อเติม  $\text{NH}_4\text{OH}$  ลงไปไม่ปรากฏเป็นสีชมพูแต่ปรากฏเป็นสีขาวขุ่น และเหลืองขุ่น ดังนั้นการตรวจสอบโดยวิธีนี้จึงให้ผลเป็นลบ แต่จากการศึกษารายงานวิจัยพบว่าในใบชี้เหล็กมีสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์เป็นองค์ประกอบ ดังนั้นอาจเกิดจากมีสารตัวอื่นมาบดบังปฏิกิริยา หรืออาจต้องใช้วิธีอื่นในการตรวจสอบ

ตารางที่ 4.15 ผลการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนของฝักรุ่น

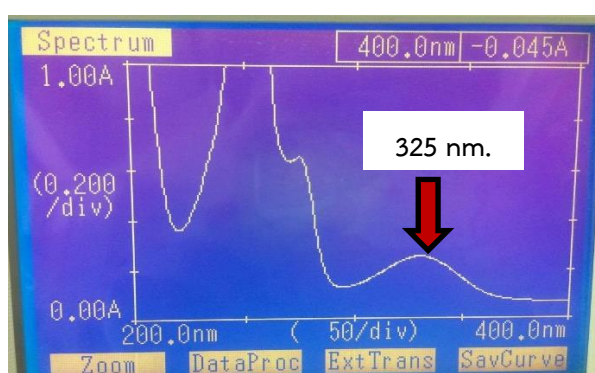
| Solvent            |                                                                                     | Color of extract |                                                                                       | Color of extract in $\text{NH}_4\text{OH}$ solution |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 70% v/v<br>Ethanol |    | Yellow           |    | Pink                                                |
| 80% v/v<br>Ethanol |   | Yellow           |   | Pink                                                |
| 95% v/v<br>Ethanol |  | Yellow           |  | Pink                                                |
| Water              |  | Yellow           |  | Pink                                                |

จากตารางที่ 4.15 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ของฝักรุ่นพบว่าเมื่อเติม  $\text{NH}_4\text{OH}$  ลงไปปรากฏเป็นสีชมพูเข้ม และสีชมพูอ่อน ดังนั้นฝักรุ่นจึงพบสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ทุกตัวทำละลาย

#### 4.2.4 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมและสร้างกราฟมาตรฐานสารละลาย

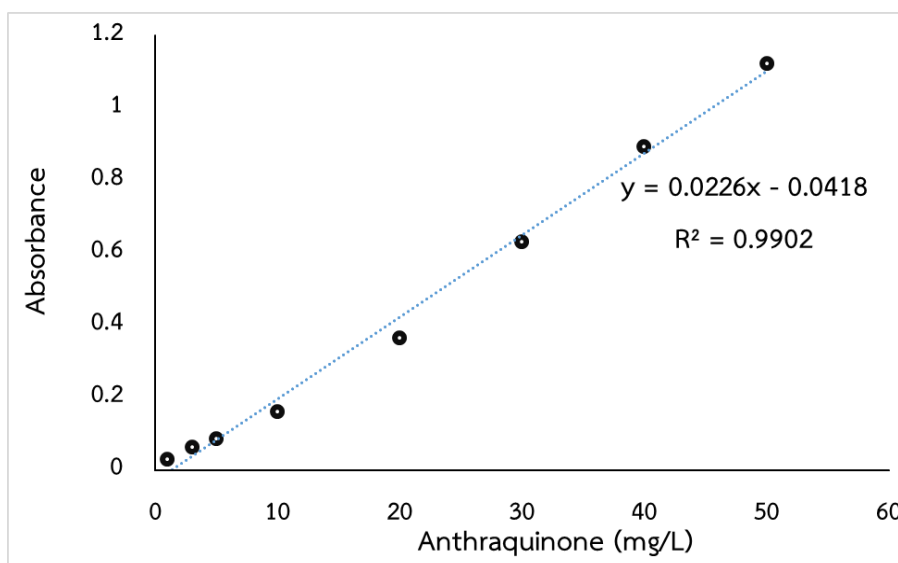
##### มาตรฐานแอนทราควิโนน

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายมาตรฐานแอนทราควิโนนที่มีความเข้มข้น 40 ppm โดยใช้ UV-VIS Spectrophotometer ที่มีช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 200-400 nm. ผลปรากฏว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเกิดที่ความยาวคลื่น 325 nm. แสดงได้ดังภาพที่ 4.13 ดังนั้นจึงเลือกความยาวคลื่นนี้ใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ 4.13 ค่าการดูดกลืนสูงสุดของสารละลายมาตรฐานแอนทราควิโนน

เมื่อได้ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากนั้นนำสารมาตรฐานความเข้มข้น 1, 3, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 mg/L มาวัดเพื่อหาค่า Absorbance และสร้างกราฟมาตรฐานสารแอนทราควิโนนดังภาพที่ 4.14



ภาพที่ 4.14 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานแอนทราควิโนน

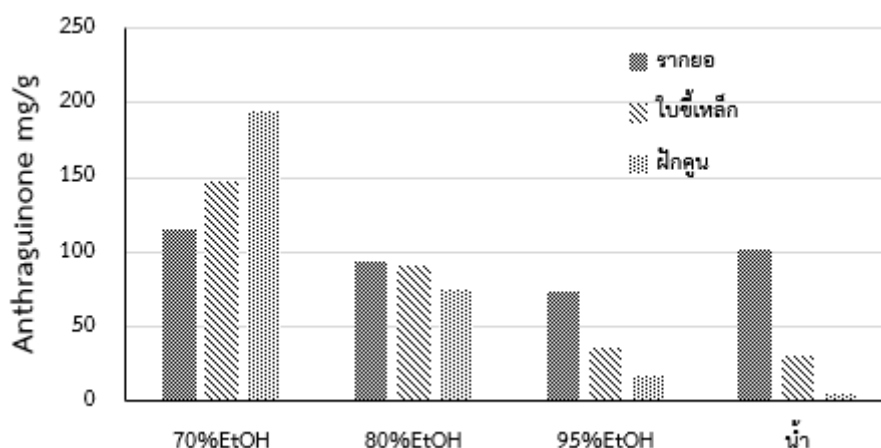
จากภาพที่ 4.14 พล็อตกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นแอนทราควิโนนเทียบกับค่าการดูดกลืนแสง ในช่วงความเข้มข้น 1-50 mg/L ได้สมการเส้นตรง  $y = 0.0226x - 0.0418$  และ  $r^2 = 0.9902$

#### 4.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนนโดยนำสารสกัดมาสกัดคลอโรฟิลล์ออกด้วย n-Butanol 10 มิลลิลิตร จนกระทั่งสีเขียวของคลอโรฟิลล์หมดไป นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 325 nm หาปริมาณเทียบกับ standard ได้ดังตารางที่ 4.17

ตารางที่ 4.17 ผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนนที่ความยาวคลื่น 325 nm.

| Sample                           | Solvent    | mg/g   | % w/w |
|----------------------------------|------------|--------|-------|
| รากยอ<br>noni root               | 70%Ethanol | 115.48 | 11.50 |
|                                  | 80%Ethanol | 93.79  | 9.34  |
|                                  | 95%Ethanol | 73.44  | 7.31  |
|                                  | น้ำ        | 101.54 | 10.12 |
| ใบจี้เหล็ก<br>cassod tree leaves | 70%Ethanol | 148.00 | 14.74 |
|                                  | 80%Ethanol | 91.14  | 9.07  |
|                                  | 95%Ethanol | 35.83  | 3.57  |
|                                  | น้ำ        | 30.96  | 3.08  |
| ฝักคูณ<br>golden shower pods     | 70%Ethanol | 193.79 | 19.31 |
|                                  | 80%Ethanol | 75.65  | 7.54  |
|                                  | 95%Ethanol | 17.02  | 1.69  |
|                                  | น้ำ        | 5.33   | 0.05  |



ภาพที่ 4.15 แสดงปริมาณสารแอนทราควิโนนที่ได้จากรากขยอ ใบขี้เหล็กและฝักคูน

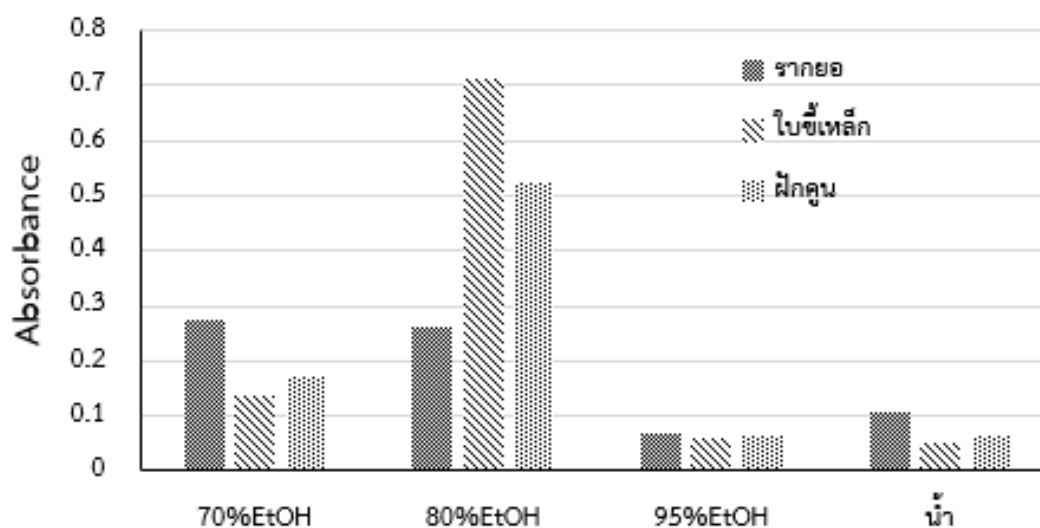
จากตารางที่ 4.15 จากการคำนวณหาปริมาณสารสกัดจากรากขยอ ใบขี้เหล็ก และฝักคูนโดยใช้ตัวทำละลายที่ต่างกัน พบว่า 70% ethanol มีปริมาณสารสกัดมากที่สุดโดยสกัดรากขยอ ใบขี้เหล็ก และฝักคูนได้เท่ากับ 115.48 148.00 และ 193.79 mg/g ตามลำดับ รองลงมาคือ 80% ethanol ได้ปริมาณสารสกัดเท่ากับ 93.79 91.14 และ 75.65 mg/g ตามลำดับ ตามด้วย 95% ethanol ได้ปริมาณสารสกัดเท่ากับ 73.44 35.83 และ 17.02 mg/g ตามลำดับ และ ต้มด้วยน้ำ ได้ปริมาณสารสกัดเท่ากับ 101.54 30.96 และ 5.33 mg/g ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวทำละลาย 70% ethanol สกัดสารแอนทราควิโนนได้มากที่สุด โดยเรียงลำดับปริมาณสารแอนทราควิโนนได้มากที่สุดคือ ฝักคูน ใบขี้เหล็ก และรากขยอ ตามลำดับ

#### 4.2.6 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์จากการทำปฏิกิริยาจะได้สารละลายสีแดงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm. จะได้ค่า absorbance ดังตารางที่ 4.18 และภาพที่ 4.16

ตารางที่ 4.18 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์

| Sample                           | Solvent     | Absorbance |
|----------------------------------|-------------|------------|
| รากยอ<br>noni root               | 70% Ethanol | 0.274      |
|                                  | 80% Ethanol | 0.260      |
|                                  | 95% Ethanol | 0.068      |
|                                  | water       | 0.109      |
| ใบขี้เหล็ก<br>cassod tree leaves | 70% Ethanol | 0.135      |
|                                  | 80% Ethanol | 0.713      |
|                                  | 95% Ethanol | 0.060      |
|                                  | water       | 0.053      |
| ฝักคูณ<br>golden shower pods     | 70% Ethanol | 0.173      |
|                                  | 80% Ethanol | 0.524      |
|                                  | 95% Ethanol | 0.063      |
|                                  | water       | 0.065      |



ภาพที่ 4.16 แสดงปริมาณแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ที่ได้จากรากยอ ฝักคูณ และใบขี้เหล็ก

จากภาพที่ 4.16 แสดงปริมาณสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ที่ได้จากรากขอ ฝักคูณและ ใบขี้เหล็ก โดยการเปรียบเทียบค่า absorbance พบว่าตัวทำละลายที่ดีที่สุดคือ 80% Ethanol และพบว่าปริมาณสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ในใบขี้เหล็กมากที่สุด รองลงมาคือฝักคูณ และรากขอ ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ค่า Absorbance ของสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์แต่ละชนิดพบว่า รากขอในตัวทำละลาย 70% Ethanol มีค่า Absorbance มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.274 ใบขี้เหล็กในตัวทำละลาย 80% Ethanol มีค่า Absorbance มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.713 และฝักคูณในตัวทำละลาย 80% Ethanol มีค่า Absorbance มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.524

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนทราควิโนนและเมธิลแอนทราควิโนนจากพืช โดยทำการศึกษาการวิเคราะห์สารเมธิลแอนทราควิโนนจาก ขิง ข่า และตะไคร้ ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันคือ 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล และ 1 M กรดซัลฟูริกในน้ำ และได้ทำการวิเคราะห์สารเมธิลแอนทราควิโนนโดยอาศัยปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน (diazotization) จากการศึกษาการวิเคราะห์สารเมธิลแอนทราควิโนนจากสารสกัด ขิง ข่า และตะไคร้ ด้วยวิธี UV-Vis Spectrophotometry ที่ความยาวคลื่น 273 นาโนเมตร และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของเมธิลแอนทราควิโนนกับค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้ 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าได้สมการเส้นตรงคือ  $y = 0.0070x + 0.0142$ ,  $R^2 = 0.9960$  และ 1 M กรดซัลฟูริก สมการเส้นตรงคือ  $y = 0.0086x + 0.0774$ ,  $R^2 = 0.9927$  จากการเปรียบเทียบตัวทำละลายที่ใช้โดยดูจากค่า Linear Regression Data สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล มีค่าความเป็นเส้นตรงที่ดีกว่า ผลการวิเคราะห์สารเมธิลแอนทราควิโนนจาก ขิง ข่า และตะไคร้ ที่สกัดด้วย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล พบว่า ข่า มีปริมาณเมธิลแอนทราควิโนนมากที่สุดเท่ากับ 6.813 % w/w พืช รองลงมาคือตะไคร้ และขิงมีปริมาณเมธิลแอนทราควิโนนเท่ากับ 1.349 และ 0.605 % w/w พืช ตามลำดับ ส่วนวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก พบว่าข่า มีปริมาณเมธิลแอนทราควิโนนเท่ากับ 0.700 % w/w พืช รองลงมาคือ ตะไคร้ และขิง มีปริมาณเมธิลแอนทราควิโนนเท่ากับ 0.426 และ 0.192 % w/w พืช ตามลำดับ ซึ่งทั้งสองวิธีให้ผลสอดคล้องกัน โดยในข่าพบเมธิลแอนทราควิโนนมากที่สุด รองลงมาคือ ตะไคร้และขิง ตามลำดับ

การวิเคราะห์สารเมธิลแอนทราควิโนนโดยอาศัยปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน ได้สีเอโซจากเมธิลแอนทราควิโนนเป็นสีส้ม และผลผลิตร้อยละเท่ากับ 52 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบความบริสุทธิ์ของสารเมธิลแอนทราควิโนนในปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน พบว่าสารขึ้นแค่แถบเดียวโดยสีเอโซมีค่า  $R_f$  เท่ากับ  $0.79 \pm 0.04$  ซึ่งบ่งบอกว่าพบสารแค่ชนิดเดียว และสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของสีเอโซที่สังเคราะห์ได้จากเทคนิค FTIR โดยดูหมู่ฟังก์ชันที่หมู่เอมีนหายไป การทดสอบความบริสุทธิ์ของสารเมธิลแอนทราควิโนนจากสารสกัดที่ได้จากขิงข่าและตะไคร้ในตัวทำละลาย 1% (v/v) กรดซัลฟูริก

ในเมทานอล มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.89 ทุกตัว และในตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริกมีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.86 ทุกตัวซึ่งมีค่า  $R_f$  ตรงกับสารมาตรฐานเมธิลแอนทรานิเลท แต่ในสารสกัดจากตะไคร้ในตัวทำละลายทั้งสองมีค่า  $R_f$  สองค่า ซึ่งแตกต่างจากจึงและข้าที่มีค่า  $R_f$  ค่าเดียว แสดงว่าในสารสกัดจากตะไคร้มีสารสกัดตัวอื่นปนอยู่ด้วย

สำหรับการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณแอนทรานิเลทจากรากขอบ ใบขี้เหล็กและฝักถุน ผลการทดลองการหาละสารสกัดที่โดยการสกัดด้วย 70%, 80%, 95%(v/v) Ethanol และ การต้มด้วยน้ำ พบว่าการต้มด้วยน้ำได้สารสกัดหยาบมากที่สุด รองลงมาคือ 70% ethanol ตามด้วย 80% ethanol และ 95% ethanol ตามลำดับ โดยในทุกตัวทำละลายพืชที่ได้สารสกัดหยาบมากที่สุดคือ ฝักถุน ใบขี้เหล็ก และรากขอบ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายน้ำมีความสามารถในการสกัดสารได้จำนวนมาก ดังนั้นองค์ประกอบส่วนใหญ่ที่อยู่ในพืชละลายได้ดีในน้ำ

จากการตรวจสอบสารแอนทราควิโนนและแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ของรากขอบ ใบขี้เหล็ก และฝักถุนโดยใช้ตัวทำละลาย 70%, 80%, 95%(v/v) Ethanol และ การต้มด้วยน้ำ ทดสอบด้วยปฏิกิริยา Brontagen reaction ปรากฏว่ารากขอบและฝักถุนตรวจสอบสารแอนทราควิโนนและแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ทุกตัวทำละลาย ส่วนใบขี้เหล็กให้ผลตรวจเป็นลบ เนื่องจากผลของคลอโรฟิลล์มาบดบังสีชมพูที่เกิดขึ้นจึงทดสอบด้วยปฏิกิริยา Brontagen reaction ไม่ได้

การวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนนของรากขอบ ใบขี้เหล็ก และฝักถุน ในสารสกัดหยาบด้วยวิธี UV-Vis Spectrophotometry ที่ความยาวคลื่น 325 nm พบว่าตัวทำละลายที่ดีที่สุดคือ 70% Ethanol และพบว่าสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ในฝักถุนมีปริมาณสารแอนทราควิโนนมากที่สุดเท่ากับ 193.793 mg/g (19.312 %w/w) รองลงมาเป็นใบขี้เหล็กและรากขอบเท่ากับ 147.997 mg/g (14.744 %w/w) และ 115.475 mg/g (11.50 %w/w) ตามลำดับ

การวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm พบว่าตัวทำละลายที่ดีที่สุดคือ 80% v/v ethanol โดยใบขี้เหล็กมีปริมาณแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์มากที่สุด รองลงมาคือ ฝักถุน และรากขอบ ตามลำดับ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืชควรบั่นให้ละเอียดมากที่สุดเท่าที่จะละเอียดได้ เพื่อให้การสกัดสารสกัดได้ดียิ่งขึ้น

5.2.2 เนื่องจากในงานวิจัยวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนทราควิโนนในสารสกัดหยาบ การวิเคราะห์จึงมีสารตัวอื่นๆปนมาด้วย ดังนั้นควรเพิ่มขั้นตอนการทำสารให้บริสุทธิ์ เพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์มากขึ้น

5.2.3. การวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนน ควรเลือกช่วงการเก็บตัวอย่างพืชตามฤดูกาล และส่วนต่างๆของพืช เช่น ใบ ดอก ผล เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนมากขึ้น

## บรรณานุกรม

- กิตติศักดิ์ แคล้วจันทร์สุข. (2559). **พฤษเคมีเบื้องต้น (Introduction to Phytochemistry)**. สาขาการแพทย์แผนไทยประยุกต์. วิทยาลัยสหเวชศาสตร์.
- กฤษฎาภรณ์ พรอินตา, ชีรยุทธ สัจจะบุตร, พันธิตา ยิ่งกระจ่าง, ศิริประภา ตราพันธ์, สิริพรรณ กันทะด้วง และนพพล เล็กสวัสดิ์. (2556). **สารแอนทราควิโนนในพืชสมุนไพรไทย**. สาขาวิชาวิศวกรรมกระบวนการอาหาร สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- เกสินี ยะจอม, สิริลักษณ์ ปิยวรรณท์ และนพพล เล็กสวัสดิ์. (2550). **การเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารแอนทราควิโนนจากราก ลำต้น เปลือก และใบของต้นยอ**. ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 85-100.
- คณะเภสัชศาสตร์. (2534). **ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ**. พิมพ์ครั้งที่ 1. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- จารุพิชญ์ ภู่อุบล และปิยะมาศ พฤษดี. (ม.ป.ป). **สายพันธุ์ของตะไคร้**. [Online]. Available: <https://sites.google.com/site/63lemongrass2556/say-phanth-khxng-takhir> (สืบค้นเมื่อ 27 พฤษภาคม 2560).
- ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิต. (2533). **ยาจากสมุนไพร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์.
- ทวีฤทธิ์ คุณบุทธิยัง และนพพล เล็กสวัสดิ์. (2552). **Anthraquinones Extraction from *Morinda sp.* Root Poeder under Steam Pressurized Conditions**. Department Food Engineering Chang Mai University. 43:238-244.
- ธีรยุทธ วิไลวัลย์, ภาณุวัฒน์ ผดุงรส, วรวิทย์ ไชยวันและศุภสร วนิชเวหา. (2558). **รู้เรื่องการสกัดด้วยตัวทำละลาย**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : [http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course\\_info/2302275/chapter8.pdf](http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302275/chapter8.pdf). (สืบค้นเมื่อ 1 มิถุนายน 2560).
- บุญชัย พงษ์นราวรรณ, Motonobu Goto, Mitsuru Sasaki, ทิติพร อเนกพรรณกุล และอภิวรรณ สุทธิภัก. (2549). **Extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia* by pressurized hot Water: Antioxidant activity of extracts**. Department of Chemical Engineering. Kumamoto University, Kumamoto 860-8555, Japan.

- บ้านของคนรักสุขภาพ. (2558). “**ชิง**” สูดยอดสมุนไพรเผ็ดร้อน มากด้วยประโยชน์และสรรพคุณทางยาเพียบ. [Online]. Available: <http://www.banhealthy.com/“ชิง”-สูดยอดสมุนไพรเผ็ดร้อน-มากด้วยประโยชน์และสรรพคุณทางยาเพียบ> (สืบค้นเมื่อ 27 พฤษภาคม 2560).
- ประเทืองศรี สิ้นชัยศรี. (2552). การกลั่นด้วยน้ำร้อน. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.yesspathailand.com/น้ำมันหอมระเหย/การผลิตการสกัด-น้ำมันมะหอมระเหย.html>. (สืบค้นเมื่อ 1 มิถุนายน 2560).
- พรรณทิพย์ ตั้งปริยารักษ์. (2551). เทคนิคปฏิบัติการใช้เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ในการวิเคราะห์ทางเคมี. [Online]. Available: <http://www.mwit.ac.th/~sarawoot/chem40235.htm> (สืบค้นเมื่อ 15 มิถุนายน 2560).
- พอลดา ชัยกิจ. (2559). การทดสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมี การต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของชุมเห็ดเทศ. สาขาวิชาเคมีศึกษา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- พจนานถ สุขช่วง. (2554). ลูกยอ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://sirinpharmacy.exteen.com/20110509/entry-2>. (สืบค้นเมื่อ 25 พฤษภาคม 2560).
- ไพลิน แก้วดอก และ สมคิด ทับสมบัติ. (มปป). การสกัดแอนทราควิโนนจากใบพืชสมุนไพรตระกูล Leguminosae. สาขาเคมี. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.
- เพื่อนเกษตร. (2560). **ป่า สรรพคุณ และการปลูกป่า**. [Online]. Available: <http://puechkaset.com/%E0%B8%82%E0%B9%88%E0%B8%B2> (สืบค้นเมื่อ 27 พฤษภาคม 2560).
- รังสรรค์ ชุนหรรณ. (2002). **โลกแห่งสมุนไพร**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.angelfire.com/ri2/rangsan/important.html>. (สืบค้นเมื่อ 1 มิถุนายน 2560).
- รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. (2535). **พืชเครื่องเทศและสมุนไพร**. กรุงเทพมหานคร : ภาคพัฒนาตำราและเอกสารวิชาการ หน่วยงานนิเทศก์ กรมการฝึกหัดครู, 2535.
- วิทย์ เทียงบุญธรรม. (2536). **พจนานุกรมสมุนไพรไทย**. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัดประชุมทองการพิมพ์. 653-655.
- วงศ์วัฒน์ เติมียบุตร, ธิดารัตน์ สืบสง่า และนพพล เล็กสวัสดิ์. (2550). การสกัดสารแอนทราควิโนนจากผงรากต้นยอด้วยคลอโรฟอร์ม เมทานอล และไดเอทิล อีเทอร์. ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 68-83.

- วงศ์วัฒน์ เติมียบุตร, ธิดารัตน์ สืบสง่า, เกศินี ยะจอม, สิริลักษณ์ ปิยะวรรณทร์ และนพพล เล็กสวัสดิ์.  
(2551). **ผลกระทบของเทคนิคการสกัดสารแอนทราควิโนนจากต้นยอต่อประสิทธิภาพการสกัด**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. 171-182.
- วุฒิ วุฒิชรรณเวช. (2540). **จีเห่ลัก**. ในสารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย. โอเดียนสโตร์. 138.
- ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์เพื่อมาตรฐานและอุตสาหกรรม. (2013). **Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. [Online]. Available: <http://science.kmutt.ac.th/sic/index.php/chemistry/23-2013-09-04-02-40-21> (สืบค้นเมื่อ 10 กรกฎาคม 2560).
- สุภาพร แสงศรีจันทร์. (2557). **เครื่อง UV-VIS spectrometer**. เคมีวิเคราะห์. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- สมศักดิ์ นวลแก้ว. (2542). **การเปรียบเทียบปริมาณแอนทราควิโนน และรูปแบบไซโมแกรมของไอโซไซมในพืชสกุลแคสเซีย**. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต เกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. จากฐานข้อมูลวิทยานิพนธ์ไทย.
- สมศักดิ์ นวลแก้ว. (2556). **Anthraquinone**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- สุมิตรา จันทร์เงา. (2555). **ดอกกุน**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.bloggang.com/m/viewdiary.php?id=vinitisiri>. (สืบค้นเมื่อ 1 มิถุนายน 2560).
- สมุนไพรรดกอม. (2554). **จีเห่ลัก**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.samunpri.com/> จีเห่ลัก. (สืบค้นเมื่อ 1 มิถุนายน 2560).
- สุธิกานต์ สุวรรณธีรางกูร, ธนพร วงศ์จินดาวิทย์ และนพพล เล็กสวัสดิ์. (2550). **แบบจำลองคณิตศาสตร์และโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับทำนายเวลาทำแห้งส่วนต่างๆของต้นยอ**. โครงการวิจัยระดับปริญญาตรี. วิทยาศาสตร์บัณฑิต, สาขาวิศวกรรมกระบวนการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สรศักดิ์ เหลียวไชยพันธุ์. (2531). **พฤษชาติ : ไกลโคไซด์**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โอเดียน สโตร์.
- อาจารย์สมุนไพรวีปไซต์ของคนรักสุขภาพ. (2557). **จีเห่ลัก**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.ajareeherb.com/2010-06-10-03-39-49/2010-06-10-08-35-36.html>. (สืบค้นเมื่อ 25 พฤษภาคม 2560).

- อรภา สกุลพานิชย์ และ วันดี กฤษณะพันธ์. (2008). **Extraction method for high content Of Anthraquinones From *cassia fistula* pods.** Faculty of Pharmacy Mahidol University. 167-172.
- อุดมเดชา พลเยี่ยม และ อัญชนะนา ขัตติยะวงศ์. (2557). ศักยภาพของสารสกัดจากมะเดื่อต่อการควบคุมการงอกและเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวเพื่อเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพและการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.
- Avery, M. L. (1992, March). **Evaluation of methyl anthranilate as a bird repellent in fruit crops.** In Proceedings of the Fifteenth Vertebrate Pest Conference 1992 (p. 4).
- Brown, J. E., Luo, W., Isabelle, L. M., & Pankow, J. F. (2014). **Candy flavorings in tobacco.** New England Journal of Medicine, 370(23), 2250-2252.
- Carmel Pak U Secondary School. (n.d). **Bird Repellent.** [Online]. Available: <http://www.cpu.edu.hk/?lang=en> (สืบค้นเมื่อ 16 มิถุนายน 2559).
- Fraternale, D., Ricci, D., Flamini, G., & Giomaro, G. (2011). **Volatiles profile of red apple from Marche region (Italy).** Records of natural products, 5(3), 202.
- Greatvista Chemicals. (2012). **Anthraquinone.** [Online]. Available from : [http://www.greatvistachemicals.com/industrial\\_and\\_specialty\\_chemicals/anthraquinone.html](http://www.greatvistachemicals.com/industrial_and_specialty_chemicals/anthraquinone.html). (สืบค้นเมื่อ 25 พฤษภาคม 2560).
- Kritsanapan, W., & Nualkeaw, S. (2003). **Variation of anthraquinone content in Senna siamea leaves.** Power point presentation, 33.
- Kugler, E. (1963). **Zur Kenntnis ätherischer Öle. 1. Mitteilung. Zur Kenntnis des Mandarinenschalen-Öls (Citrus reticulata BLANCO, bzw. Citrus nobilis var. deliciosa SWINGLE „Mandarin“).** Helvetica Chimica Acta, 46(5), 1480-1513.
- Linz, G. M., & Homan, H. J. (2012). **Preliminary evaluation of 9, 10 anthraquinone bird repellent for managing blackbird damage to ripening sunflower.**
- Mason, T. J. 1998. **Power ultrasound in food processing – the way forward.** pp. 105-26. In “ **Ultrasound in Food Processing**”. Povey, M. J. W. and Mason, T. J.(eds.). Blackie Academic & Professional, London.

- Nozal, M. J., Bernal, J. L., Toribio, L., Jiménez, J. J., & Martín, M. T. (2001). **High-performance liquid chromatographic determination of methyl anthranilate, hydroxymethylfurfural and related compounds in honey.** *Journal of Chromatography A*, 917(1), 95-103.
- Primus, T. M., Griffin, D. L., Avery, M. L., & Johnston, J. J. (1995). **Liquid chromatographic method for the determination of methyl anthranilate in liquid formulation and residues on formulated rice seed bait.** *Journal of agricultural and food chemistry*, 43(12), 3052-3056.
- Royal society of Chemistry. (2014). **Anthraquinone.** [Online]. Available from : <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13835294.html>.  
(สืบค้นเมื่อ 25 พฤษภาคม 2560).
- Sawai, Y., Yamaguchi, Y., & Tanaka, J. (2004). **Methyl anthranilate is the cause of cultivar-specific aroma in the Japanese tea cultivar 'Sofu'.** *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 38(4), 271-274.
- Sesta, G., Piana, M. L., Oddo, L. P., Lusco, L., & Belligoli, P. (2008). **Methyl anthranilate in Citrus honey.** Analytical method and suitability as a chemical marker. *Apidologie*, 39(3), 334-342.
- Susie Bautista. (2016). **Grapes, Grandma and Methyl anthranillate.** [Online]. Available: <http://flavorscientist.com/2016/03/17/grapes-grandma-and-methyl-anthranillate/> (สืบค้นเมื่อ 16 มิถุนายน 2559).
- Yadav, G. D., & Krishnan, M. S. (1998). **An ecofriendly catalytic route for the preparation of perfumery grade methyl anthranilate from anthranilic acid and methanol.** *Organic Process Research & Development*, 2(2), 86-95.
- Yi-Lonh Xu, Li-ying Tang, Xi-Dan Zhou, Guo-Hong Zhou and Zhu-Ju Wang. (2015). **Five new anthraquinones from the seed of *Cassia obtusifolia*.** *Arch. Pharm. Res.* 38:1054-1058.

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

- ประมวลภาพงานวิจัย



ภาพที่ ผก 1 การสกัดด้วยเครื่อง Ultrasonic bath



ภาพที่ ผก 2 การแยกสารสกัดออกจากพืชตัวอย่างด้วยการปั่นเหวี่ยง



ชิง



ข้า



ตะไคร้

ภาพที่ ผก 3 สารสกัดที่ได้จาก ชิง ข้า และตะไคร้ ด้วยตัวทำละลาย 1% (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล



ขิง

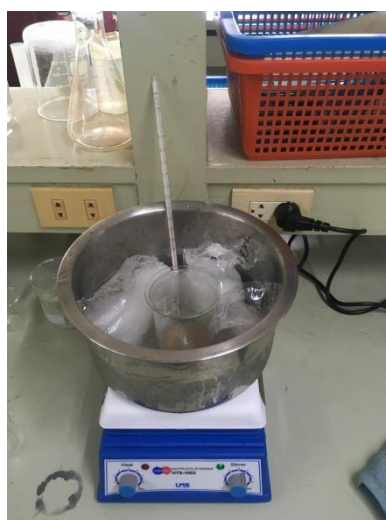


ข่า

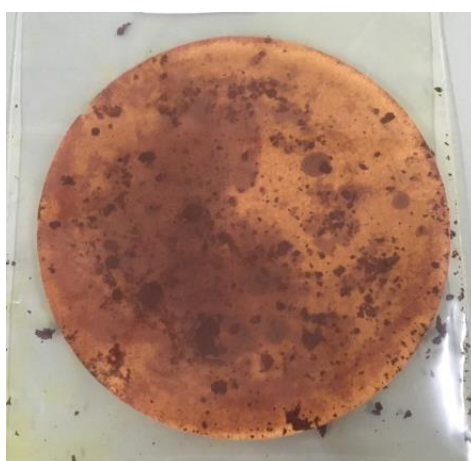


ตะไคร้

ภาพที่ ผก 4 สารสกัดที่ได้จาก ขิง ข่า และตะไคร้ ด้วยตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก



ภาพที่ ผก 5 การควบคุมอุณหภูมิ 5 °C ในการสังเคราะห์สีเอโซของสารมาตรฐานเมธิลแอนทรานิเลท



ภาพที่ ผก 6 สีเอโซจากการสังเคราะห์สีเอโซสารเมธิลแอนทรานิเลท

## ภาคผนวก ข

- ข้อมูลดิบ

## ตอนที่ 1 การหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณเมธิลแอนทรานิลเลทจากขิง ข่า และตะไคร้

### 1. ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากสารสกัดพืชสมุนไพร

ตารางที่ ผข 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดขิง ด้วยตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล

| สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า | ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) |            |            |                   |
|---------------------------|------------------------|------------|------------|-------------------|
|                           | ครั้งที่ 1             | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย            |
| ครั้งที่ 1                | 0.872                  | 0.883      | 0.908      | $0.888 \pm 0.018$ |
| ครั้งที่ 2                | 0.920                  | 0.935      | 0.945      | $0.933 \pm 0.013$ |
| ครั้งที่ 3                | 0.770                  | 0.758      | 0.762      | $0.763 \pm 0.013$ |
| ค่าเฉลี่ย                 |                        |            |            | $0.861 \pm 0.719$ |

ตารางที่ ผข 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดข่า ด้วยตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล

| สารสกัดข่าเจือจาง 100 เท่า | ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) |            |            |                   |
|----------------------------|------------------------|------------|------------|-------------------|
|                            | ครั้งที่ 1             | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย            |
| ครั้งที่ 1                 | 0.930                  | 0.906      | 0.917      | $0.918 \pm 0.012$ |
| ครั้งที่ 2                 | 1.038                  | 1.015      | 1.042      | $1.032 \pm 0.015$ |
| ครั้งที่ 3                 | 0.949                  | 0.950      | 0.961      | $0.953 \pm 0.007$ |
| ค่าเฉลี่ย                  |                        |            |            | $0.968 \pm 0.048$ |

**ตารางที่ ผข 3** ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตะไคร้ ด้วยตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล

| สารสกัดตะไคร้เจือจาง 50 เท่า | ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) |            |            |                   |
|------------------------------|------------------------|------------|------------|-------------------|
|                              | ครั้งที่ 1             | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย            |
| ครั้งที่ 1                   | 0.308                  | 0.313      | 0.339      | $0.320 \pm 0.017$ |
| ครั้งที่ 2                   | 0.632                  | 0.641      | 0.639      | $0.637 \pm 0.005$ |
| ครั้งที่ 3                   | 0.220                  | 0.215      | 0.221      | $0.219 \pm 0.003$ |
| ค่าเฉลี่ย                    |                        |            |            | $0.392 \pm 0.179$ |

**ตารางที่ ผข 4** ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดขิง ด้วยตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก

| สารสกัดขิงเจือจาง 10 เท่า | ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) |            |            |                   |
|---------------------------|------------------------|------------|------------|-------------------|
|                           | ครั้งที่ 1             | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย            |
| ครั้งที่ 1                | 0.345                  | 0.356      | 0.356      | $0.352 \pm 0.006$ |
| ครั้งที่ 2                | 0.357                  | 0.364      | 0.370      | $0.364 \pm 0.007$ |
| ครั้งที่ 3                | 0.491                  | 0.506      | 0.515      | $0.504 \pm 0.012$ |
| ค่าเฉลี่ย                 |                        |            |            | $0.407 \pm 0.069$ |

**ตารางที่ ผข 5** ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดข่า ด้วยตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก

| สารสกัดข่าเจือจาง 50 เท่า | ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) |            |            |                   |
|---------------------------|------------------------|------------|------------|-------------------|
|                           | ครั้งที่ 1             | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย            |
| ครั้งที่ 1                | 0.218                  | 0.215      | 0.213      | $0.215 \pm 0.003$ |
| ครั้งที่ 2                | 0.333                  | 0.336      | 0.339      | $0.336 \pm 0.003$ |
| ครั้งที่ 3                | 0.399                  | 0.402      | 0.407      | $0.403 \pm 0.004$ |
| ค่าเฉลี่ย                 |                        |            |            | $0.318 \pm 0.078$ |

ตารางที่ ผข 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตะไคร้ ด้วยตัวทำละลาย 1 M กรดซัลฟูริก

| สารสกัดตะไคร้เจือจาง 20 เท่า | ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) |            |            |                   |
|------------------------------|------------------------|------------|------------|-------------------|
|                              | ครั้งที่ 1             | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | เฉลี่ย            |
| ครั้งที่ 1                   | 0.462                  | 0.465      | 0.458      | $0.462 \pm 0.004$ |
| ครั้งที่ 2                   | 0.428                  | 0.434      | 0.435      | $0.432 \pm 0.004$ |
| ครั้งที่ 3                   | 0.433                  | 0.437      | 0.441      | $0.437 \pm 0.004$ |
| ค่าเฉลี่ย                    |                        |            |            | $0.444 \pm 0.013$ |

## 2. ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลท

ตารางที่ ผข 7 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมธิลแอนทราโนเลทที่เตรียมด้วยตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล

| ความเข้มข้นสาร<br>มาตรฐาน (mg/L) | ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) |            |            |                   |
|----------------------------------|------------------------|------------|------------|-------------------|
|                                  | ครั้งที่ 1             | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | ค่าเฉลี่ย         |
| 15 mg/L                          | 0.089                  | 0.097      | 0.093      | $0.093 \pm 0.004$ |
| 20 mg/L                          | 0.165                  | 0.164      | 0.158      | $0.162 \pm 0.004$ |
| 25 mg/L                          | 0.210                  | 0.209      | 0.220      | $0.213 \pm 0.006$ |
| 30 mg/L                          | 0.210                  | 0.210      | 0.214      | $0.211 \pm 0.002$ |
| 50 mg/L                          | 0.389                  | 0.382      | 0.392      | $0.388 \pm 0.005$ |
| 100 mg/L                         | 0.678                  | 0.667      | 0.679      | $0.678 \pm 0.007$ |
| 120 mg/L                         | 0.848                  | 0.845      | 0.849      | $0.847 \pm 0.002$ |
| 150 mg/L                         | 1.045                  | 1.114      | 1.038      | $1.060 \pm 0.042$ |

ตารางที่ ผข 8 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเมธิลแอนทรานิเลทที่เตรียมด้วยตัวทำละลาย  
1 M กรดซัลฟูริก

| ความเข้มข้นสาร<br>มาตรฐาน (mg/L) | ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) |            |            |                   |
|----------------------------------|------------------------|------------|------------|-------------------|
|                                  | ครั้งที่ 1             | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | ค่าเฉลี่ย         |
| 5 mg/L                           | 0.085                  | 0.096      | 0.092      | $0.091 \pm 0.006$ |
| 10 mg/L                          | 0.155                  | 0.167      | 0.168      | $0.163 \pm 0.007$ |
| 15 mg/L                          | 0.200                  | 0.203      | 0.205      | $0.203 \pm 0.002$ |
| 20 mg/L                          | 0.261                  | 0.264      | 0.260      | $0.262 \pm 0.003$ |
| 30 mg/L                          | 0.332                  | 0.334      | 0.323      | $0.330 \pm 0.006$ |
| 50 mg/L                          | 0.533                  | 0.542      | 0.545      | $0.540 \pm 0.006$ |
| 60 mg/L                          | 0.636                  | 0.615      | 0.628      | $0.626 \pm 0.011$ |
| 100 mg/L                         | 0.915                  | 0.907      | 0.905      | $0.909 \pm 0.005$ |

## ตอนที่ 2 การหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณแอนทราควิโนน จากรากยอ ฝักกุนและใบขี้เหล็ก

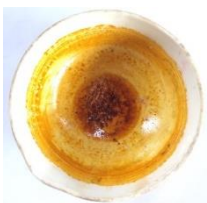
ตารางที่ ผข 1 ความเข้มข้นของสารสกัดรากยอ ใบขี้เหล็ก และฝักกุน

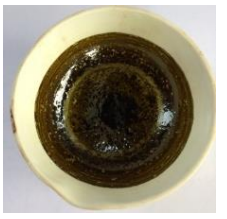
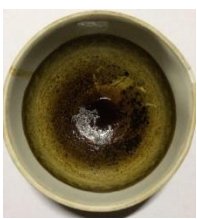
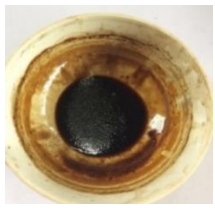
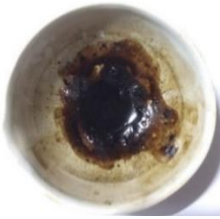
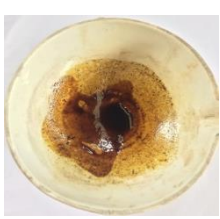
| สารตัวอย่าง | Solvent    | Absorbance        | ความเข้มข้น (mg/L) |
|-------------|------------|-------------------|--------------------|
| รากยอ       | 70%Ethanol | $0.521 \pm 0.004$ | 230.95             |
|             | 80%Ethanol | $0.423 \pm 0.000$ | 187.59             |
|             | 95%Ethanol | $0.331 \pm 0.062$ | 146.88             |
|             | น้ำ        | $0.458 \pm 0.561$ | 203.07             |

|           |            |             |        |
|-----------|------------|-------------|--------|
| ใบจีเหล็ก | 70%Ethanol | 0.668±0.004 | 295.99 |
|           | 80%Ethanol | 0.411±0.001 | 182.28 |
|           | 95%Ethanol | 0.161±0.000 | 71.66  |
|           | น้ำ        | 0.139±0.001 | 61.92  |
| ฝักกุน    | 70%Ethanol | 0.875±0.012 | 387.59 |
|           | 80%Ethanol | 0.341±0.017 | 151.30 |
|           | 95%Ethanol | 0.076±0.006 | 34.05  |
|           | น้ำ        | 0.240±0.243 | 10.66  |

การสกัดสารแอนทราควิโนน โดยวิธีการต้มและการสกัดสารแอนทราควิโนนโดยวิธี Soxhlet extraction ด้วยตัวทำละลาย 70% 80% และ 95% (v/v) Ethanol ได้ Crude ของสารสกัด ดังตารางที่ ผข 9

ตารางที่ ผข 9 สารสกัดหยาบของรากขอ ใบจีเหล็ก และฝักกุน ที่ได้จากตัวทำละลาย 70%, 80%, 95% Ethanol และน้ำ

| ตัวอย่างสารสกัด | สารสกัดหยาบที่ได้จากการระเหยแห้ง                                                    |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|                 | 95% Ethanol                                                                         | 80% Ethanol                                                                          | 70% Ethanol                                                                           | น้ำ                                                                                   |
| รากขอ           |  |  |  |  |

|           |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                     |                                                                                     |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| ใบชี้หลัก |  |  |  |  |
| ผักกูด    |  |  |  |  |

## ประวัติคณะผู้วิจัย

- ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวรุจิรา คุ่มทรัพย์  
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Ruchira Khoomsab
- เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 1-6705- 00049- 36- 2
- ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานมหาวิทยาลัยสายวิชาการ
- หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail  
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์  
67000 โทรศัพท์ (056) 717100 ต่อ 2713 โทรสาร (056) 717123  
E - mail : rupinkaew13@gmail.com

## 5. ประวัติการศึกษา

| ปีที่สำเร็จ | ระดับ<br>ปริญญา | อักษรย่อปริญญา | ชื่อสถานการศึกษา     | ประเทศ |
|-------------|-----------------|----------------|----------------------|--------|
| 2551        | ตรี             | วท. บ เคมี     | มหาวิทยาลัยนเรศวร    | ไทย    |
| 2554        | โท              | วท.ม. (เคมี)   | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ | ไทย    |

## 6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ การวิเคราะห์น้ำ

## 7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพ ในการทำการวิจัยว่าเป็นหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

### 7.1 งานวิจัยที่สำเร็จแล้ว: ชื่อโครงการวิจัย ปีที่ดำเนินโครงการ และแหล่งทุน

1. งานวิจัย เรื่อง Derivative Spectrophotometry for The Simultaneous Determination of Acetyl Salicylic Acid, Caffeine and Paracetamol, ด้วยเงินอุดหนุนงานวิจัย สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก, 2550

2. วิทยานิพนธ์เรื่อง Exhaustive Separation of Fibroin, Sericin and Pigments from Yellow Thai Silk Cocoon, ตุลาคม 2554. ได้รับทุนจาก PERCH CIC และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3. งานวิจัยชั้นเรียน เรื่องการพัฒนาการเรียนการสอนวิชาเคมีที่เน้นผู้เรียนเป็นสำคัญกรณีศึกษา:การวิเคราะห์คุณภาพน้ำแม่น้ำป่าสัก เขตเทศบาลเมืองเพชรบูรณ์ในรายวิชาการวิเคราะห์น้ำ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี งบประมาณ พ.ศ. 2555

4. งานวิจัยเรื่อง การผลิตและการเตรียมถ่านกัมมันต์จากขี้ข้าวโพด เพื่อใช้ในการดูดซับมีเทนแหล่งทุน ทุนอุดหนุนการวิจัยประเภททั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2556

5. งานวิจัย เรื่อง การพัฒนาความสามารถการเรียนรู้โดยใช้แผนผังมโนทัศน์ของนักศึกษาสาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ รายวิชา การวิเคราะห์น้ำ เรื่องคุณภาพน้ำ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทการเรียนการสอน มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2557

## 7.2 การเผยแพร่งานวิจัย: ชื่อผลงานวิจัย ชื่อวารสารที่เผยแพร่ ปีที่พิมพ์

ผลงานวิจัยเรื่อง Effect of Solvent Systems on Reflux Extraction of Pigments in Yellow Thai Silk Cocoon ชื่อวารสาร : วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) ปีที่ : 3 ฉบับที่ : 1 เลขหน้า : 226-233 ปีพ.ศ. : 2554 ได้รับทุนจาก PERCH CIC

ผลงานวิจัยเรื่อง เรื่อง Atomic Density Fluctuation of Harmonic Oscillator Cosine Asymmetric Potential via Numerical Shooting Method. *Advanced Studies in Theoretical Physics*. Vol. 8, 2014, no. 24, 1083 – 1088

## ประวัติผู้ร่วมวิจัย

- ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวเสาวภา ชุมณี  
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Saowapa Chumanee
- เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-9501-00563-95-0
- ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ระดับ 7
- หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ (056) 717100 ต่อ 2713 โทรสาร (056) 717110 โทรศัพท์มือถือ 083-8709393  
E – mail : Saowapa@yahoo.com

## 5. ประวัติการศึกษา

| ปีที่สำเร็จ | ระดับปริญญา | อักษรย่อปริญญา        | ชื่อสถานการศึกษา       | ประเทศ |
|-------------|-------------|-----------------------|------------------------|--------|
| 2531        | ตรี         | วท.บ. (เคมี)          | มหาวิทยาลัยรามคำแหง    | ไทย    |
| 2541        | โท          | วท.ม. (เคมี)          | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  | ไทย    |
| 2550        | เอก         | Ph.D. (เคมีวิเคราะห์) | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ | ไทย    |

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ-  
สาขาวิชาเคมีสิ่งทอ เคมีสิ่งแวดล้อม การวิเคราะห์สารตกค้างที่อยู่ในอาหาร

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย

-

7.2 หัวหน้าแผนงานวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

-

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน  
(อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

1. ทำงานวิจัย เรื่อง สังเคราะห์และศึกษาสเปกโทรโฟโตเมตริก 3-[(2-ไฮดรอกซี-5-ไนโตรฟีนอล)เอโซ] และ 3,6-บิส-[(2-ไฮดรอกซี-5-ไนโตรฟีนอล)เอโซ] อนุพันธ์ของ กรดโครโมโทรปิก เป็นรีเอเจนต์ วิเคราะห์หาปริมาณบิสมี (III) ได้รับทุนวิจัยจากสำนักวิจัยและบริหารวิชาการ สถาบันราชภัฏเพชรบูรณ์ ในปี พ.ศ. 2544

2. ทำงานวิจัยสาขาเคมีวิเคราะห์เรื่อง LC-MS/MS method for the confirmatory determination of aromatic amines and its application in textile analysis. และเขียนเผยแพร่ที่ P. Sutthivaiyakit, S. Achatz, J. Linlelmann, T. Aungpradit, R. Chanwirat, S. Chumane and A. Kettrup. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, 381: 268-276. ได้รับทุนวิจัยจากโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและการวิจัยทางเคมี ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปี พ.ศ. 2545

3. นำเสนอผลงานวิจัยโดยปากเปล่า ของโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษา และการวิจัยทางเคมี ครั้งที่ 4 2548 (PERCH Congress VI 2005, AC-O10: 60) เรื่อง Chromatographic determination of nitrofur metabolites using a new derivatising reagent โดย

S. Chumane and P. Sutthivaiyakit.

4. สิทธิบัตรไทย เลขที่คำขอ 0601004341, วันที่ยื่นคำขอ 8 กันยายน 2549 เรื่อง สารอนุพันธ์ เมตาบอไลต์ของไนโตรฟูรานชนิดใหม่สำหรับตรวจวัดแบบคัดกรองเมตาบอไลต์ของไนโตรฟูราน โดย รศ. ดร. ภควดี สุทธิไวยกิจ, รศ.ดร.สมยศ สุทธิไวยกิจ และ เสาวภา ชุมณี

5. ทำงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาวิธีการตรวจวัดหาปริมาณยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในกุ้ง เป็นงานวิจัยระดับปริญญาเอก 2550.

6. ทำงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารกันเสีย (กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก เมทิลพาราเบน และโพรพิลพาราเบน) ในอาหาร และเครื่องสำอาง โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ในปี พ.ศ. 2552

7. ทำงานวิจัย เรื่อง ศึกษาผลกระทบจากการใช้ปุ๋ยในทางเกษตรกรรมที่มีต่อคุณภาพน้ำและดินในพื้นที่ลุ่มน้ำป่าสักตอนบน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

#### ประวัติผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล นางสาววิไลพร ปองเพียร

Miss Wilaiporn Pongpian

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-6705-00335-37-0

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก

หลักสูตรสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67000

โทรศัพท์ (056) 717100 ต่อ 2713 โทรสาร (056) 717110

โทรศัพท์มือถือ 081-9538551

E – mail : atom2414@hotmail.com

#### 5. ประวัติการศึกษา

วท.บ. (เคมี)

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

วท.ม. วิทยาศาสตร์ศึกษา(เคมี)

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

## 6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

สาขาวิชาเคมีอนินทรีย์

เคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ และเครื่องสำอาง

การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

## 7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

### 7.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

1. ทำงานวิจัย เรื่อง การศึกษาเพื่อเพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากมะขามของชุมชน จังหวัดเพชรบูรณ์ ทูลอดหนุนการวิจัยประเภททั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2549
2. ทำงานวิจัย เรื่อง การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชพื้นบ้านที่มีสีม่วง ในปี พ.ศ. 2550 ทูลอดหนุนการวิจัยประเภททั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2550
3. ทำงานวิจัย เรื่อง การศึกษาคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในผักแม้ว ทูลอดหนุนการวิจัยประเภททั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2551
4. ทำงานวิจัย เรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ แอนโท-ไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในพืชพื้นบ้านที่มีสีม่วงแดง เป็นงานวิจัยระดับปริญญาโท 2552  
149
5. ทำงานวิจัย เรื่อง การศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากงา เพื่อช่วยยับยั้ง การหมื่นหื่น ในปี พ.ศ. 2552 ทูลอดหนุนการวิจัยประเภททั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2552
6. ทำงานวิจัย เรื่อง การใช้บทเรียนคอมพิวเตอร์ช่วยสอน เรื่องสารประกอบไอออนิก เพื่อส่งเสริมการเรียนรู้ สำหรับนักศึกษาที่มีข้อจำกัดในการสืบค้นเอกสารตำรา ทูลอดหนุนการวิจัยประเภทการเรียนการสอน มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2553
7. ทำงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาสูตรสบู่แฟนซีจากน้ำมันที่ใช้แล้ว ทูลอดหนุนการวิจัยประเภททั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2554

8. ผู้ร่วมวิจัย เรื่อง การผลิตถ่านกัมมันต์จากฝักระยะที่เสียหายจากราเพื่อใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

9. ทำงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาสูตรสบู่ข้าวลิ้มผิวและสบู่ถ่านฝักระยะที่เสียหายจากรา ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภททั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2556

10. หัวหน้าแผนงาน เรื่อง การพัฒนาศักยภาพการผลิต เชื่อมโยงการตลาดสินค้า“ข้าวไร้ลิ้มผิว” ในระบบเกษตรอินทรีย์ เพื่อพัฒนาเศรษฐกิจจังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

11. หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอาง เพื่อเพิ่มมูลค่า “ข้าวไร้ลิ้มผิว”สู่เศรษฐกิจอย่างยั่งยืน จังหวัดเพชรบูรณ์ ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

## 7.2 การเผยแพร่งานวิจัย

1. นาสโนผลงานวิจัยปากเปล่า ในงานเกษตรแห่งชาติ ปี 2551 (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเกษตร) ณ มหาวิทยาลัยนเรศวร เรื่อง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของแอนโทไซยานิน และสารประกอบ ฟีนอลิกจากพืชพื้นบ้านที่มีสี

2. งานวิจัย เรื่อง การพัฒนาสูตรสบู่แฟนซีจากน้ำมันที่ใช้แล้ว พ.ศ. 2554 และได้ตีพิมพ์ลงในราชภัฏเพชรบูรณ์สาร ปีที่ ๑๔ ฉบับที่ ๑

## 7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ

1. หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวฮางอกพญาลิ้มแกง

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวศศิกันต์ ปานปรานีเจริญ

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Sasikarn Panpraneecharoen

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 1 6699 00003 16 3

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 83 หมู่ 11 ถนนสระบุรี-หล่มสัก ตำบลสะเดียง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ 08-5877-1829 E-mail: scipcr62@gmail.com

5. ประวัติการศึกษา

| ปีที่สำเร็จ | ระดับปริญญา | อักษรย่อปริญญา | ชื่อสถานการศึกษา       | ประเทศ |
|-------------|-------------|----------------|------------------------|--------|
| 2549        | ตรี         | วท. บ เคมี     | มหาวิทยาลัยนเรศวร      | ไทย    |
| 2552        | โท          | วท.ม. (เคมี)   | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ | ไทย    |
| 2559        | เอก         | ปร.ค. (เคมี)   | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ | ไทย    |

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) เคมีอุตสาหกรรมเคมีสี

เคมีสิ่งทอ พลังงานทางเลือก

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

7.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่และแหล่งทุน

1. Synthesis of p-aminobenzenesulphonic acid and cyanamide triazinyl reactive dyes and their applications on cotton

2. The synthesis of a novel reactive dye and its applications on cotton

3. การพัฒนาแบบทดสอบวัดผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนจากคอมพิวเตอร์ช่วยสอนในวิชาเคมีเบื้องต้น การเผยแพร่ โดยสถาบันวิจัยและพัฒนา ผู้ให้ทุนสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

4. การศึกษาสภาวะการย้อมสีมันบนด้ายฝ้าย ปีที่ตีพิมพ์ 2555 การเผยแพร่โดยสถาบันวิจัยและพัฒนา ผู้ให้ทุนสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

5. ความพึงพอใจในแบบทดสอบท้ายบทเรียนวิชาเคมีสิ่งทอของนักศึกษา การเผยแพร่โดยสถาบันวิจัยและพัฒนา ผู้ให้ทุนสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

6. ชุดผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันใช้แล้วโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาจากธรรมชาติ ทุนงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2559

7.2 ประสบการณ์อื่น ๆ และการเผยแพร่ผลงานที่เกี่ยวข้อง

ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสาร

1. ศศิกานต์ ปานปราณีเจริญ และวิไลพร ปองเพียร. “การศึกษาสภาวะการย้อมสีมันบนด้ายฝ้าย.” *ราชภัฏเพชรบูรณ์สาร*. 13(2554) : 1-6.

2. Panpraneecharoen S., C. Khamchum, P. Vaithanomsat, M. Thanasombat and V. Punsuvon. 2014. Variability of Oil Content, Fatty Acid Composition

and Karanjin Content in *Pongamia pinnata* and Its Relationship with Biodiesel Quality. **Annual Research & Review in Biology**. 4(14): 2283-2294.

3. Panpraneecharoen S. and V. Punsuvon. 2014. Transesterification of *Pongamia pinnata* Oil into Biodiesel Using Quick Lime Based Calcium Methoxide as Catalyst. **Applied Mechanics and Materials**. 625: 324-327.

4. Panpraneecharoen S., V. Punsuvon and C. Puemchalad. 2015. Comparison of Homogeneous and Heterogeneous Catalysts in Biodiesel Production from *Pongamia pinnata* Oil. **Asian Journal of Chemistry**. 27(3): 1023-1027.

5. Panpraneecharoen, S., V. Punsuvon and Y.H. Ju. "In situ transesterification of ground *Pongamia pinnata* kernel under sub/supercritical methanol conditions." **Asian Journal of Chemistry**. 28(2016) : 369-373.

### 7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ : คุณสมบัติทางเคมีและกระบวนการหมักเอทานอลจากมัน พื้นเมือง

สกุล Dioscorea sp. ทุนงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2560 ดำเนินการวิจัยไปแล้ว 70 เปอร์เซ็นต์

## ภาคผนวก ค

- การคำนวณ

## ตอนที่ 1 การหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณเมธิลแอนทรานิเลท จากขิง ข่าและตะไคร้

### 1) การคำนวณหาปริมาณสารเมธิลแอนทรานิเลท

1.1) การคำนวณหาปริมาณสารเมธิลแอนทรานิเลทของสารสกัดข่า (เจือจาง 100 เท่า) ในตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล (mg/L)

จากสมการ  $y = 0.007x + 0.0142$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า } y = 0.968 ; \quad 0.968 &= 0.007x + 0.0142 \\ 0.007x &= 0.968 - 0.0142 \\ x &= \frac{0.968 - 0.0142}{0.007} \\ x &= 136.26 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

สารสกัดข่าเจือจาง 100 เท่าในตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล

ดังนั้น สารสกัดข่าเข้มข้น ในตัวทำละลาย 1 % (v/v) กรดซัลฟูริกในเมทานอล มีปริมาณเมธิลแอนทรานิเลท 13,626 mg/L

1.2) การคำนวณปริมาณเมธิลแอนทรานิเลทในพืชสมุนไพรในหน่วย % w/w

การเตรียมสารสกัดขิงพืช 2 g สกัดด้วยตัวทำละลาย 10 mL

$$\text{สมการ} \quad \% \text{ w/w} = \frac{\text{นน.เมธิลแอนทรานิเลท} \times 100}{\text{นน. พืชสด}} \dots\dots\dots(1)$$

$$\begin{aligned} \text{สารเมธิลแอนทรานิเลท (MA)} &= \frac{13,626 \text{ mgMA}}{\text{L}} \times \frac{1 \text{ gMA}}{1000 \text{ mgMA}} \times \frac{1\text{L}}{1000\text{mL}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 0.13626 \text{ g MA} \\ \text{แทนใน (1) \% w/w} &= \frac{0.13626 \text{ g MA} \times 100}{2 \text{ g พืชสด}} \\ &= 6.813 \% \text{ w/w พืชสด} \end{aligned}$$

หมายเหตุ : ทุกตัวที่ทำการทดลองใช้วิธีการคำนวณเดียวกัน

MA คือ เมธิลแอนทรานิเลท

## 2) การวิเคราะห์ร้อยละการสังเคราะห์สีย้อมสารเมธิลแอนทราโนเลท (%Yield)

การคำนวณร้อยละผลผลิตของการสังเคราะห์สีย้อมสารเมธิลแอนทราโนเลท

$$\text{จากสมการการคำนวณหาผลผลิตร้อยละ (\%Yield)} = \frac{\text{น้ำหนักที่ได้จริง}}{\text{น้ำหนักตามทฤษฎี}} \times 100$$

$$\text{ผลผลิตร้อยละ} = \frac{0.2331 \times 100}{0.4227}$$

$$= 55.15 \%$$

ดังนั้นสารเมธิลแอนทราโนเลท 0.5116 g สังเคราะห์สีย้อมได้ 0.2331 g หรือ 55.15 %

หมายเหตุ : ทุกตัวที่ทำการทดลองใช้วิธีการคำนวณเดียวกัน

## 3) การวิเคราะห์หาความบริสุทธิ์การสังเคราะห์สีย้อมสารเมธิลแอนทราโนเลท

การคำนวณการหาความบริสุทธิ์จากการสังเคราะห์สีย้อมสารเมธิลแอนทราโนเลท

$$\text{จากสมการการคำนวณหา } R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (cm)}}$$

$$\begin{aligned} R_f &= \frac{4.8}{6} \\ &= 0.8 \end{aligned}$$

หมายเหตุ : ทุกตัวที่ทำการทดลองใช้วิธีการคำนวณเดียวกัน

## ตอนที่ 2 การหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณแอนทราควิโนนจากรากยอ ฝักกุน และใบจี่เหล็ก

### 1) สูตรการคำนวณความเข้มข้นที่แท้จริงในสารตัวอย่าง

จากสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน  $y = 0.0226X - 0.0418$

แทนค่า y ด้วยค่า Absorbance ของรากยอที่สกัดด้วย 70% ethanol = 0.521

$$0.521 = 0.0226x - 0.0418$$

หาความเข้มข้นของ x

$$\begin{aligned} X &= (0.521/0.0226) + 0.0418 \\ &= 23.0949 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

สารสกัดมา 10 มิลลิลิตร เจือจางเป็น 100 มิลลิลิตร ดังนั้นสารสกัดความเข้มข้นของรากยอที่สกัดด้วย 70% ethanol เท่ากับ

$$\begin{aligned} \text{ความเข้มข้นของสารสกัด} &= \text{ความเข้มข้น(จากกราฟ)} \times \text{dilution factor} \\ &= 23.0949 \text{ mg/L} \times (100/10) \\ &= 230.949 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

หมายเหตุ : ทุกตัวที่ทำการทดลองใช้วิธีการคำนวณเดียวกัน

### 2) สูตรการคำนวณปริมาณสารแอนทราควิโนนในหน่วย mg/g

ชั่งพืช 2.0082 กรัม ต้มละลาย 200 มิลลิลิตร และปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอาสารสกัดมา 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Vis

Spectrophotometer รากยอสกัดด้วย 70% ethanol ได้ความเข้มข้นแอนทราควิโนนเท่ากับ 230.949 mg/L

$$\begin{aligned} \text{เนื้อสาร AQ} &= \frac{230.949 \text{ mg AQ}}{\cancel{\text{L}}} \times \frac{\cancel{1} \times 100 \text{ mL} \times 10 \cancel{\text{ เท่า}}}{1000 \cancel{\text{ mL}}} \text{ (dilution factor)} \\ &= 230.949 \text{ mg} \end{aligned}$$

ดังนั้น ในพืชแห้ง 2.0082 กรัม มี AQ = 230.949 mg

$$\text{ถ้าในพืชแห้ง 1 กรัม จะมี AQ} = \frac{1 \times 230.949}{2.0082} = 115.002 \text{ mg/g}$$

หมายเหตุ พืชชนิดอื่นคำนวณเหมือนกัน

3) สูตรการคำนวณปริมาณสารแอนทราควิโนนในหน่วย % w/w

$$\text{เนื้อสาร AQ} = \frac{230.949 \text{ mg AQ}}{\text{L}} \times \frac{1 \text{ g AQ}}{1000 \text{ mg AQ}} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL} \times 10 \text{ เท่า}$$

(dilution factor)

$$= \frac{230.949}{1000}$$

$$= 0.230 \text{ g AQ}$$

$$\text{ดังนั้น \%w/w} = \frac{\text{น้ำหนัก Anthraguinone (AQ)}}{\text{น้ำหนักพืชแห้ง}} \times 100$$

$$= \frac{0.230 \text{ g}}{2.0082 \text{ g}} \times 100$$

$$= 11.453 \%w/w$$

หมายเหตุ พืชชนิดอื่นคำนวณเหมือนกัน